

Invenția se referă la chimie și agricultură, în special la utilizarea unui compus heterociclic, derivat al 1,2,4-triazolului, în calitate de remediu fungicid contra patogenului *Gloeosporium ampelophagum* Sacc., cu acțiune inhibitorie asupra germinării sporilor acestuia.

Din totalitatea bolilor ce provoacă daune semnificative viței de vie, o însemnată nu mai puțin importantă, o are și antracnoza, o boală provocată de ciuperca *Gloeosporium ampelophagum* Sacc. Această boală, care își are originea din Europa, s-a răspândit în întreaga lume și provoacă epidemii grave în timpul anotimpurilor calde și umede.

Agentul patogen al antracnozei, atacă organele aeriene ale viței de vie și este deosebit de patogen în primele faze de dezvoltare a viței de vie, atunci când poate ataca lăstarii tineri, rahisul inflorescențelor și sistemul foliar ceea ce duce la crearea unui anumit deficit de hrană, stagnarea proceselor de maturare a lăstarilor, strugurilor și ca urmare micșorarea recoltei.

Cu toate ca în ultimii ani antracnoza nu are o dezvoltare semnificativă, trebuie de ținut cont că ponderabilitatea bolii poate fi distrugătoare atât pentru recolta de struguri, cât și pentru vița de vie, urmările fiind nematurizarea coardelor și incapacitatea de rezistență la condițiile iernilor geroase. Dezvoltarea și răspândirea antracnozei poate produce pagube importante de recoltă în viile în care nu se respectă tehnologia de cultură și de protecție a plantelor. Atunci când condițiile sunt favorabile, atacul acestei boli poate fi foarte grav, ducând la pagube importante, fiind afectată nu numai producția anului respectiv, ci și a anilor următori. Intensitatea apariției bolii este mai pronunțată în timpul creșterii lăstarilor și înfloririi viței de vie, dar infectarea e posibilă pe parcursul întregii perioade de vegetație, deoarece numărul de generații al ciupercii poate ajunge până la 30 și chiar 40 în anii epifitotici. În lipsa tratamentelor daunele provocate de antracnoză pot duce la pierderi de recoltă chiar și până la 80 % [Mirică I., Mirică A. Antracnoza viței de vie și combaterea ei. Studiu monografic, Editura Ceres 1981, pag. 5-134].

Pentru germinarea sporilor agentului patogen sunt necesare condiții de umiditate și temperatură a aerului de doar +3°C. Perioada de incubație depinde de temperatură (10...12°C - 12 zile, 24...25°C - 3...5 zile), precum și de vârsta frunzei, de aceea foarte important este să nu fie ratat termenul de aplicare a primelor tratamente. Primele tratamente se fac cu fungicide chimice pe bază de cupru anorganic, mancozeb, metiram, iar mai târziu cu preparate sistemice.

În calitate de preparat fungicid standard în viticultură este utilizat preparatul comercial pe bază de cupru cu denumirea de marcă – cuproxat [1]. Acesta reprezintă un preparat de natură anorganică, protejat prin know-how de producătorul din UE. Deși posedă o activitate destul de înaltă, cuproxatul are dezavantajul că trebuie utilizat în doze relative înalte (de 1%), totodată, datorită naturii sale anorganice, el nu se descompune și poate duce la poluare cu metalul greu cupru.

Un efect bun inhibitor împotriva antracnozei îl au și fungicidele din grupa triazolilor (de ex. Revus Top; Quadris Top; Inspire Super (Horus+Scor); Sistan, Riley (miclobutanil) și Talendo (tetraconazol) [<https://vinograd.info/spravka/slovar/antraknoz-vinograda.html>]. Din aceste fungicide este folosit pe larg preparatul triazolic cu denumirea chimică IUPAC 1-[[2-(2,4-diclorfenil)-4-propil-1,3-dioxolan-2-il]metil]-1,2,4-triazol, cunoscut sub denumirile comerciale propiconazol, Tilt, ș. a. [2]. Dezavantajele acestui fungicid constau în aceea că activitatea lui nu este destul de înaltă pentru combaterea antracnozei. Totodată, există riscul de apariție a rezistenței la metoda chimică de control, dacă nu se alternează preparatele de contact cu cele sistemice, precum și substanțele active din diferite clase. Identificarea noilor compuși contra antracnozei cu activitate antifungică, eficiență sporită și toxicitate redusă, atât asupra culturii, cât și asupra mediului prezintă un interes practic în sistemul de protecție a viței de vie.

Problema rezolvată de invenție constă în extinderea gamei de preparate din clasa triazolilor cu activitate fungitoxică ridicată care ar putea fi utilizate cu succes în agricultură pentru combaterea antracnozei provocată de *Gloeosporium ampelophagum* Sacc.

Esența invenției constă în aceea că în calitate de compus activ cu acțiune inhibitorie asupra germinării sporilor ciupercii fitopatogene din specia *Gloeosporium ampelophagum* Sacc., agentul patogen al antracnozei viței de vie, se propune (Z)-1-(2,4-diclorfenil)-5-metil-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)hex-1-en-3-ona în concentrație optimă activă de 0,05%.

Avantajele invenției constau în aceea că compusul (Z)-1-(2,4-diclorfenil)-5-metil-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)hex-1-en-3-onă contribuie la sporirea activității fungitoxice pentru agentul cauzal al antracnozei viței de vie și poate fi folosit ca substanță activă în combaterea acestei boli, astfel lărgind gama de produse din clasa triazolilor.

De asemenea, costul producerii compusului din invenție este unul relativ redus și se obține conform brevetului MD1604 Y, unde este descrisă și activitatea antifungică a compusului menționat față de *Fusarium oxysporum*.

(Z)-1-(2,4-diclorfenil)-5-metil-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)hex-1-en-3-ona a fost testată in vitro pentru determinarea activității antifungice împotriva ciupercii *Gloeosporium ampelophagum*. Activitatea a fost comparată în testele de inhibare in vitro cu cea a preparatelor comerciale, și anume, cu analogul proxim triazolic după structură și activitate Tilt și preparatul standard utilizat în viticultură - cuproxat.

Exemplu de realizare a invenției

Izolarea agentului patogen a fost efectuată conform metodei [Недов П.Н. Новые методы фитопатологических и иммунологических исследований в виноградарстве. Кишинев «Штиинца», 1985, стр. 9-52]. Pentru izolarea *Gloeosporium ampelophagum* Sacc. se colectează din câmp frunze, lăstari și boabe ale viței de vie ce prezintă simptome de antracnoză. În condiții de laborator materialul colectat se spală sub apă curgătoare, apoi în apă distilată sterilă, după care se iau bucăți de țesut afectat și se transferă în cutii Petri pe mediu nutritiv agarizat (cartof-

dextroză-agar) în condiții sterile. Cutiile Petri ce conțin inoculul ciupercii, sunt transferate în termostat la temperatura de 24...26°C. Creșterea miceliului începe în a doua - a treia zi după inoculare. Peste 10-15 zile culturile izolate pot fi transferate în alte cutii Petri pe mediu nutritiv, pentru obținerea culturii pure a ciupercii.

Preparatul din invenție a fost obținut într-o singură etapă, conform brevetului de scurtă durată MD1604 Y, prin condensarea stereospecifică a 2,4-diclorobenzaldehidei cu triazolilpentanona respectivă.

Testarea preparatului din invenție a fost efectuată conform metodei [Голышин Н.М., Смирнова А.А., Зильберминц И.В. Методические указания по определению устойчивости вредителей и возбудителей болезней сельскохозяйственных культур и энтомофагов к пестицидам. Типография ВАСХНИЛ, Москва 1984, стр. 56-61]. Din cultura pură se pregătește suspensia de spori ai patogenului care se lasă la temperatura camerei pentru 1,5...2 ore, ca sporii să se disperseze. Se pregătesc lamelele de sticlă, se dezinfectează, apoi în condiții sterile se acoperă cu mediu nutritiv agarizat. Pentru testarea preparatului, acesta se aplică sub formă de soluții în DMSO, prin pulverizare pe suprafața lamelei acoperite cu mediu nutritiv, după care peste 30 min - 1 oră se aplică suspensia de spori ai patogenului. Ulterior lamelele de sticlă se transferă în cutii Petri așternute cu hârtie de filtru umezită pentru o asigurare a umidității de 100%. Lucrările se efectuează în condiții sterile, în boxa prealabil dezinfectată cu ajutorul unui bec bactericid UV. Experiența va conține varianta control (suspensie de spori fără preparat), varianta standard cu preparatul cuproxat și varianta cu analogul proxim cu preparatul Tilt. Cutiile Petri cu conținutul cercetat au fost menținute în camera climatică la temperatura de 24°C. Peste 24 ore lamelele de sticlă au fost examinate la microscopul optic pentru evaluare și determinarea germinării sporilor. Studiarea sporilor s-a realizat sub obiectivul cu puterea de mărire x45 al microscopului optic Meopta, în diferite locuri pe lamelă, numărând în câmpul de vedere toți sporii, atât cei germinați, cât și cei negerminați. Au fost numărați în total câte 50 de spori pentru fiecare variantă în patru repetiții, determinând procentul de spori germinați în raport cu cei negerminați.

Rezultatul acțiunii preparatului se calculează folosind formula Abbott:

$$T = \frac{P_c - P_e}{P_c} \times 100$$

unde T – rezultatul acțiunii preparatului (%)

P<sub>c</sub> - procentul sporilor germinați în varianta control (%)

P<sub>e</sub> - procentul sporilor germinați în varianta experimentală (%)

Tabel

Acțiunea preparatelor asupra germinării sporilor *Gloeosporium ampelophagum* Sacc.

| Denumirea preparatului                                                           | Doza, (%) | Nr. repetiției   | Nr. de spori cercetați | Nr. de spori germinați din totalul celor cercetați | Procentul de spori germinați (%) | Acțiunea preparatului, T (%) | Media acțiunii preparatului (%) |
|----------------------------------------------------------------------------------|-----------|------------------|------------------------|----------------------------------------------------|----------------------------------|------------------------------|---------------------------------|
| Invenția (Z)-1-(2,4-diclorfenil)-5-metil-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)hex-1-en-3-onă | 0,05      | 1<br>2<br>3<br>4 | 50<br>50<br>50<br>50   | 0<br>0<br>1<br>0                                   | 0<br>0<br>2<br>0                 | 100<br>100<br>98<br>100      | 99,5                            |
| Tilt, 1-[[2-(2,4-diclorfenil)-4-propil-1,3-dioxolan-2-il]metil]-1,2,4-triazol    | 0,05      | 1<br>2<br>3<br>4 | 50<br>50<br>50<br>50   | 43<br>41<br>44<br>50                               | 86<br>82<br>88<br>100            | 6,52<br>0<br>12<br>0         | 4,63                            |
| Cuproxat (standard)                                                              | 1,0       | 1<br>2<br>3      | 50<br>50<br>50         | 33<br>42<br>43                                     | 66<br>84<br>86                   | 19,5<br>16<br>14             | 16,5                            |
| Martor                                                                           | -         | 1<br>2<br>3<br>4 | 50<br>50<br>50<br>50   | 46<br>41<br>50<br>50                               | 92<br>82<br>100<br>100           | -<br>-<br>-<br>-             | -                               |

Conform rezultatelor prezentate, se atestă o acțiune inhibitorie în valoare de 99,5% a compusului din invenție în concentrație de 0,05%, asupra germinării sporilor *Gloeosporium ampelophagum* Sacc. Este clar pentru un specialist în domeniu că aceasta nu exclude utilizarea preparatului din invenție și la concentrații rezonabile mai mari decât

intervalul indicat. Dar această utilizare nu este justificată economic având în vedere că deja la concentrația de 0,05 % se atinge o acțiune practică foarte înaltă.