

Dispozitiv portabil bazat pe biosenzori pentru evaluarea riscului de infectare a strugurilor cu *Botrytis cinerea* in vie (WINBIOTOOL)

Etapa 2/2021

Etapa a doua a proiectului (2021) a avut drept scop dezvoltarea si optimizarea dispozitivului portabil integrat pentru determinarea infectiei cu *Botrytis cinerea*, a activitatii lacazei si a aplicatiei de gestionare a riscului de atac fungic in vie.

Pentru atingerea obiectivului, in această etapă ICDVV Valea Călugărească a realizat 4 activități:

(1) Monitorizarea si evaluarea calitativă si cantitativă a strugurilor infectati cu *Botrytis cinerea*. Analiza activitatii lacazei in strugurii infectati (continuare Etapa 1);

(2) Proces operational de decizie a tratamentelor fitosanitare bazat pe monitorizarea activitatii lacazei in plantatiile de vita de vie (continuare Etapa 1);

(3) Analiza factorilor ecologici si tehnologici care conditionează aparitia si evolutia putregaiului cenușiu (*Botrytis cinerea*) in plantatiile de vită de vie (continuare Etapa 1);

(4) Vizite de lucru, manifestari stiintifice si diseminarea rezultatelor.

REZULTATE OBTINUTE

(1) Monitorizarea si evaluarea calitativă si cantitativă a strugurilor infectati cu *Botrytis cinerea*. Analiza activitatii lacazei in strugurii infectati

Monitorizarea riscului de infectie cu ciuperca *Botrytis cinerea* a fost realizată in plantatiile de vită de vie din Centrul viticol Valea Călugărească, pe 5 soiuri de vită de vie pentru struguri de vin si anume: trei soiuri cu sensibilitate mare la putregaiul cenușiu, respectiv, Chardonnay, Sauvignon, Fetească alba si 2 soiuri cu rezistentă medie, Feteasca neagra si Cabernet Sauvignon. Deși condițiile de mediu au fost favorabile dezvoltării *Botrytisului* începând cu luna iunie, ca urmare a faptului că, tratamentele fitosanitare au fost aplicate la momentul optim, gradul de atac asupra producției de struguri a fost foarte mic. Acesta a înregistrat valori cuprinse între 0,04% la soiul Fetească neagră si 2.0% la Chardonnay în fenofaza de intrare în pargă a strugurilor și între 0,25% la soiul Fetească neagră si 1,24% la Sauvignon blanc în fenofaza de coacere deplină a strugurilor.

Potentialul fenolic al strugurilor la recoltare se modifică semnificativ în functie de gradul de afectare a recoltei. Degradarea compusilor polifenolici în mustul infectat cu *Botrytis cinerea* poate fi explicată prin cresterea activității lacazei în mustul infectat de la 2,42 U/mL (Chardonnay) – 4,81 U/mL (Sauvignon blanc), la o intensitate a atacului de 25%, la valori cuprinse între 15,24 (Fetească alba) si 19,92 (Sauvignon blanc) la o intensitate a atacului de 51 – 75%.

Între gradul de infectie a musturilor cu *Botrytis cinerea* si activitatea lacazica a fost pusă în evidentă o corelatie directă.

Ca o consecință a degradării compusilor polifenolici si a intensificării activității lacazei în mustul infectat cu *Botrytis cinerea*, a fost evidentiată modificarea caracteristicilor cromatice în sensul cresterii valorilor parametrului "Tenta" si a procentului culorii galbene a mustului, în directă corelatie cu procesele oxidative.

(2) Proces operational de decizie a tratamentelor fitosanitare bazat pe monitorizarea activitatii lacazei in plantatiile de vita de vie Stabilirea specificatiilor preliminare si implementarea aplicatiei de gestionare a riscului de infectie fungică in vie

Procesul operational de decizie a tratamentelor fitosanitare, realizat in programul excel, se bazează pe cunoașterea și parametrizarea elementelor care favorizează apariția și evoluția bolii (variabilele independente) și a elementelor care definesc efectele produse de acestea (variabilele dependente).

Deoarece, pe langa elementele climatice, în aparitia si evolutia putregaiului cenusiu intervin si alti factori, pentru evaluarea riscului de infectie cu *Botrytis cinerea* si luarea unor decizii privind aplicarea unor măsuri culturale sau/si efectuarea tratamentelor fitosanitare, s-au luat în considerare si alti factori care favorizează dezvoltarea bolii, si anume: predispozitia genetică a soiurilor, amplasarea, desimea, starea generală a plantației si fenofazele cheie in care incidenta bolii poate fi mare.

Aceste informații au fost incluse intr-o **Bază de cunoștințe** si utilizate, prin intermediul modelului de prelucrare a datelor în stabilirea riscului de afectare a plantațiilor viticole de atacul ciupercii.

Alegerea celor mai potrivite soluții de diminuare a efectului aparitiei si dezvoltării atacului de putregai cenusiu se realizează în funcție de un *factor de risc*, stabilit pe baza evaluării cu note de la 1 la 5 a 12 parametrii care exercită un rol important asupra productivității și sustenabilității plantațiilor viticole, în contextul managementului putregaiului cenusiu.

Acești parametrii cuantificati în stadiile fenologice cheie in care incidenta bolii poate fi mare sunt: Perioada de vegetatie a vitei de vie, Suma precipitațiilor, Umiditatea relativă a aerului, Perioada de remanența a apei pe frunze, struguri (ore), Uniformitatea repartizării precipitațiilor, Temperatura medie din perioada umectării frunzelor, Rezistența la putregaiul cenusiu a soiurilor vinifera, Amplasarea plantației, Desimea plantației, Starea generală a plantației, valoarea lacazei.

Nota 1 reprezintă un risc scăzut de afectare, iar nota 5 reprezintă un risc foarte mare de afectare a plantațiilor viticole.

În funcție de rezultatele obținute se pot sugera posibilele intervenții, respectiv, măsurile profilactice sau de combatere, măsuri de refacere parțială a butucilor de viță de vie afectați de atacul fungic, calendarul tratamentelor fitosanitare, cu indicarea momentelor de aplicare a tratamentelor.

(3) Analiza factorilor ecologici si tehnologici care conditionează aparitia si evolutia putregaiului cenusiu (*Botrytis cinerea*) in plantatiile de vită de vie.

Pentru a stabili influenta factorilor ecologici si tehnologici care conditioneaza aparitia si evolutia putregaiului cenusiu (*Botrytis cinerea*) in plantatiile de vita de vie au fost luate in strudiu două soiuri de vita de vie, Cabernet Sauvignon cu rezistentă medie la atacul putregaiului cenusiu si Chardonnay cu sensibilitate mare.

Condițiile ecoclimatice din perioada de de vegetație a vitei de vie în anul 2021 s-au caracterizat printr-un regim heliotermic redus pe fondul unor resurse hidrice moderate cu multiple influențe în evoluția fenofazelor vegetative.

Tinând cont de temperatura medie din perioada umezirii frunzișului și durata umezelii frunzelor, cantitatea de precipitații și valoarea umidității relative, condiții favorabile manifestării putregaiului cenusiu au fost în lunile iunie (95.4 ore) și august (68.8 ore) pe fondul unor temperaturi optime de 19.4°C, respectiv 21.4°C.

Analizand evoluția umidității solului pe adancimea 0-100 cm în timpul perioadei de vegetație a vitei de vie se constată ca la debutul perioadei de vegetație, luna aprilie,

umiditatea solului se situa la un nivel normal, a crescut în cursul lunii iulie datorită precipitațiilor abundente ce au căzut în această lună, după care umiditatea solului a scăzut constant până la sfârșitul perioadei de vegetație, atingând în cursul lunii septembrie valori apropiate de coeficientul de ofilire al plantelor

În conformitate cu indicii de risc stabiliți în etapa 1, în fenofaza de Dez mugurit a existat un risc scăzut sau moderat de infecție, iar în celelalte fenofaze, un risc moderat sau mare de infecție.

Deși condițiile de mediu au fost favorabile dezvoltării *Botrytisului* începând cu luna iunie, tratamentele fitosanitare fiind aplicate la momentul optim, au diminuat gradul de atac asupra producției de struguri la doar 0.95% la Chardonnay și 0.52% la Cabernet Sauvignon. În urma atacului de *Botrytis cinerea* pierderile de producție fiind de 2.2-3.5%.

(4) Vizite de lucru, manifestari stiintifice si diseminarea rezultatelor

INTALNIRI DE PROIECT

În cursul anului 2021 au fost realizate frecvente vizite de lucru și întâlniri între partenerii români la ICDVV Valea Călugărească având drept scop:

- stabilirea elementelor care trebuie să fie luate în considerare pentru dezvoltarea imunosenzorului electrochimic;
- preluarea probelor de struguri și de must cu grade diferite de infecție cu *Botrytis cinerea* obținute prin realizarea infecțiilor artificiale cu spori de *Botrytis* de ICDVV Valea Călugărească;
- pregătirea probelor de spori dezvoltate pe miceliile unor tulpini (3) de putregai cenușiu izolate și purificate de ICDVV Valea Călugărească în vederea utilizării acestora pentru dezvoltarea imunosenzorului electrochimic;
- testarea metodei electrochimice de determinare a lacazei, comparativ cu metoda spectrofotometrică.

Coordonatorul proiectului ENKOA SYSTEM, S.L. a organizat online o întâlnire de lucru (25.05.2021) la care au participat toți partenerii consorțiului și în cadrul căreia a fost analizat stadiul de realizare a activităților derulate în anul 2020 și modul în care vor fi abordate activitățile planificate pentru anul 2021.

DISEMINAREA REZULTATELOR

Activitățile din cadrul proiectului au fost diseminate prin participarea la:

1) Conferința *Advances in Food Chemistry 2021 (AdFoodChem 2021)* care s-a desfășurat online în perioada 15 – 17 aprilie 2021, cu lucrarea "Screen printed electrochemical sensors for monitoring laccase and lysozyme during wine production", autori: Vasilescu, A., Gáspár S., Titoiu. A.M., Porumb R., Brinduse E.

2) Simpozionul internațional *ISB-INMA TEH' 2021 Technologies And Technical Systems In Agriculture, Food Industry And Environment*, care s-a desfășurat online în data de 29 octombrie, 2021, cu lucrarea "Quality and quantitative assessment of grapes infected with *Botrytis cinerea* in vineyards", autori: Ion Marian, Brîndușe Elena, Nedelcu Cătălina Loredana.