

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **236814**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **428327**

(22) Data zgłoszenia: **28.07.2015**

(62) Numer zgłoszenia, z którego nastąpiło wydzielenie:
413298

(51) Int. Cl.

A01N 43/828 (2006.01)

A01P 21/00 (2006.01)

(54) **Zastosowanie N-metylo N-metoksyamidu-7-karboksybenzo[1,2,3]tiadiazolu-
jako stymulatorów roślin do ochrony roślin przed stresem biotycznym**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

30.01.2017 BUP 03/17

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

22.02.2021 WUP 04/21

(73) Uprawniony z patentu:

**FUNDACJA UNIWERSYTETU
IM. ADAMA MICKIEWICZA W POZNANIU,
Poznań, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:

**MARCIN ŚMIGŁAK, Poznań, PL
HENRYK POSPIESZNY, Poznań, PL
RAFAŁ KUKAWKA, Poznań, PL
PIOTR LEWANDOWSKI, Koszalin, PL
OLGA STOLARSKA, Poznań, PL
HIERONIM MACIEJEWSKI, Poznań, PL**

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Barbara Urbańska-Łuczak

PL 236814 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest zastosowanie N-metylo N-metoksyamidu-7-karboksybenzo-[1,2,3]tiadiazolu jako substancji zapobiegającej skutkom stresu biotycznego takiego jak działanie patogenicznych wirusów, bakterii i grzybów.

Jeden ze związków, N-metylo, N-metoksyamid-7-karboksybenzo[1,2,3]tiadiazolu (BTHWA) został omówiony w patentach międzynarodowych począwszy od 1988 roku. Patenty te przedstawiają syntezę i zastosowanie pochodnych benzo[1,2,3]tiadiazolu jako potencjalnych związków do indukcji odporności. Związek BTHWA jest wymieniony tylko i wyłącznie jako jeden z bardzo wielu związków, które mogą działać jako induktory odporności roślin przeciwko mikroorganizmom, czyli bakteriom i grzybom.

W patencie amerykańskim US 5190928 (1991) jest informacja o strukturze związku BTHWA ale nie bezpośrednio o jego syntezie, która została zastrzeżona w patencie amerykańskim US 4931581 (1988). Synteza grupy związków opartych o pochodne amidu 7-karboksybenzo[1,2,3]tiadiazolu, tak jak zgłaszane w tym patencie, została opisana dokładnie w patencie amerykańskim US 5523311 (1995). W patencie US 5190928 (1991) zastrzegany jest tylko proces uodparniania roślin przeciwko atakowi fitopatogenicznych mikroorganizmów (bakterii i grzybów).

Grupę związków pochodnych amidu 7-karboksybenzo[1,2,3]tiadiazolu otrzymuje się (według US 5523311 (1995)) na drodze syntezy chemicznej. Związek BTHWA został przedstawiony w tabeli pod nr 3.31 (t.t. 115–117°C) patentu amerykańskiego US 5190928 (1991).

W amerykańskim patencie US 5190928 (1991) zostało omówione na podstawie przykładów działanie substancji wymienionych w tabeli i opisanych numerem 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.9, 1.16, 1.34, 1.35, 1.37, 1.38, 1.39, 1.44, 1.46, 1.68, 1.71, 1.72, 1.79, 1.81, 1.86, 1.95, 1.96, 1.101, 1.102, 1.103, 1.108, 1.116, 1.119, 1.135, 1.136, 1.139, 1.140, 1.144, 2.2, 2.3, 2.5, 3.1, 3.13, 3.28, 3.29, 3.9, 5.2, 7.6, 7.26, 7.5 w układach roślina – patogen jako substancji uodparniających rośliny przeciwko chorobom roślin powodowanym przez mikroorganizmy.

Aplikacja odbywa się różnymi metodami m.in. poprzez podawanie substancji przez liście, przez glebę oraz zaprawianie. Układy roślina-patogen zostały przedstawione jako przykłady m.in. *Colletotrichum lagenarum* na *Cucumis sativus* L. (ogórek), *Pyricularia oryzae* na ryżu, *Pseudomonas lachrymans* na *Cucumis sativus* L. (ogórek), *Xanthomonas oryzae* na ryżu, *Xanthomonas vesicatoria* na papryce, *Phytophthora infestans* na pomidorach, *Plasmopara viticola* na winogronach, *Pseudomonas tomato* na pomidorach, *Phytophthora parasitica* var. *nicotinae* na tytoniu, *Peronospora tabacina* na tytoniu, *Cercospora nicotianae* na tytoniu, *Pseudomonas tabaci* na tytoniu, *Erysiphe graminis* na pszenicy.

Wirusy (*fac. virus* – trucizna, jad) są to skomplikowane cząsteczki organiczne, nie mające struktury komórkowej, zbudowane z białek i kwasów nukleinowych. Zawierają materiał genetyczny w postaci RNA (wirusy RNA) lub DNA. Według definicji Andrégo Lwoffa, wirus to „zakaźny, potencjalnie patogenny nukleoproteid, istniejący tylko pod postacią jednego kwasu nukleinowego, który reprodukuje materiał genetyczny. Jest niezdolny do podziałów poza komórką i zazwyczaj nie posiada enzymów, a zatem nie wykazuje metabolizmu.” Według internetowego słownika Merriam-Webster, życie to „stan organizmu charakteryzujący się zdolnością do metabolizmu, wzrostu, reakcji na bodźce, i reprodukcji.” Wirusy nie posiadają metabolizmu ani nie mogą samodzielnie wzrastać i reprodukować się, co nie pozwala na kwalifikowanie ich jako organizmów żywych (tym samym mikroorganizmów).

Odporność roślin na czynniki środowiskowe – mechanizmy obronne pozwalające przetrwać roślinom w warunkach stresu. Odporność na stres może mieć charakter konstytutywny albo indukowany. W pierwszym przypadku mechanizmy obronne występują trwale przez całe życie rośliny. Odporność indukowana pojawia się na skutek działania czynnika stresowego – stresora.

Czynniki stresowe środowiska dzielą się na stresory abiotyczne i biotyczne. Do czynników abiotycznych zaliczane są: temperatura (wysoka, chłód, mróz), promieniowanie świetlne (wysokie, niskie), susza, niedobór tlenu, czynniki mechaniczne (wiatr, pokrywa śnieżna, pokrywa lodowa), związki chemiczne (zasolenie, toksyny, niedobór minerałów). Do czynników biotycznych zaliczane są: mikroorganizmy (grzyby, bakterie), wirusy, rośliny (allelapatia, pasożytnictwo, konkurencja), zwierzęta (zgryzanie, pasożytnictwo, deptanie).

Technologie produkcji roślinnej oparte o doskonalenie samej tylko uprawy zaczynają napotykać na ograniczenia wynikające z niemożności wykorzystania potencjału biologicznego tkwiącego w odmianie hodowlanej. Stąd też stałe poszukiwanie nowych rozwiązań mających na celu zapewnienie roślinom najkorzystniejszych warunków do wzrostu i rozwoju, chociażby poprzez ochronę przed wystąpieniem różnych stresorów biotycznych i abiotycznych, a w efekcie końcowym zwiększenia wydajności plonów.

Zapewniając roślinom optymalne warunki wzrostu wszelkimi znanymi metodami agrotechnicznymi (takimi jak: uprawa roli, zmianowanie, nawożenie, nawadnianie, ochrona przed chorobami, szkodnikami i chwastami) rolnicy dążą do uzyskania jeszcze wyższych i lepszej jakości plonów. Najlepszym rozwiązaniem jest zastosowanie stymulatorów roślin.

Stymulatory roślin są to różnego rodzaju i pochodzenia preparaty stosowane w uprawie roślin, w celu usprawnienia procesów wzrostu i rozwoju. Wpływ stymulatorów na rośliny nie wynika z bezpośredniego udziału w regulacji procesów życiowych, lecz z oddziaływania na metabolizm w szerokim tego słowa znaczeniu. Stymulują one syntezę naturalnych hormonów, niekiedy zwiększają ich aktywność, usprawniają pobieranie składników mineralnych z podłoża, regulują wzrost korzeni. Ponadto powodują zwiększenie odporności na niekorzystne warunki (biotyczne lub abiotyczne). Stosowanie stymulatorów w uprawie roślin powoduje zwiększenie plonu, często przy jednoczesnym wzroście jego jakości. Stymulatory roślin usprawniają zachodzące w roślinach procesy życiowe bez modyfikowania ich naturalnego zachowania.

Istotą wynalazku jest zastosowanie N-metylo N-metoksyamidu-7-karboksybenzo[1,2,3]tiadiazolu, jako substancji zapobiegającej skutkom stresu biotycznego takiego jak działanie patogenicznych wirusów, bakterii i grzybów.

Korzystnym jest również, gdy substancję zapobiegającą skutkom stresu biotycznego takiego jak działanie patogenicznych wirusów, bakterii i grzybów stosuje się w postaci roztworu wodnego albo w postaci roztworu w rozpuszczalniku organicznym, albo w postaci mieszaniny rozpuszczalników organicznych i nieorganicznych a zwłaszcza w układach woda-alkohol w proporcjach od 0 do 100% jednego ze składników, albo w postaci emulsji stanowiącej stymulator enkapsulowany i zawieszony w roztworze.

Korzystnym jest także, gdy substancję zapobiegającą skutkom stresu biotycznego takiego jak działanie patogenicznych wirusów, bakterii i grzybów stosuje się w roztworach o stężeniu substancji aktywnej w ilości 0,001–900 mg/L, korzystnie 0,01–100 mg/L.

Ponadto korzystnym jest, gdy do substancji zapobiegającej skutkom stresu biotycznego takiego jak działanie patogenicznych wirusów, bakterii i grzybów dodaje się adiuwantu w ilości poniżej 10% objętości roztworu cieczy roboczej.

Dzięki zastosowaniu rozwiązania według wynalazku uzyskano następujące efekty techniczno-użytkowe:

- bardzo efektywna ochrona roślin przed stresem biotycznym powodowanym przez infekcje wirusowe
- bardzo efektywna ochrona roślin przed stresem biotycznym powodowanym przez infekcje bakteryjne
- bardzo efektywna ochrona roślin przed stresem biotycznym powodowanym przez infekcje grzybiczne
- bardzo niska dawka wykazująca zadowalającą skuteczność biologiczną
- bardzo szerokie i kompleksowe działanie

Grupa związków pochodnych amidu 7-karboksybenzo[1,2,3]tiadiazolu została zgłoszona do patentu za nr US 5190928 (1991) pt. „Process and a composition for immunizing plants against diseases”, nr US 5523311 (1995) pt. „Process and a composition for immunizing plants against disease”, nr US 4931581 (1988) pt. „Carbonyloxy or thiocarbonyl-benzo-1,2,3-thiadiazole derivatives used as chemical activator to stimulate plants capacity to defend itself against microbial infections”. Całe ujawnienie tych wynalazków winno być potraktowane jako odsyłacz literaturowy dla niniejszego zgłoszenia i jest włączone do opisu przez odniesienie.

Zastosowanie związku z grupy pochodnych amidu 7-karboksybenzo[1,2,3]tiadiazolu, jako substancji zapobiegającej skutkom stresu biotycznego takiego jak działanie patogenicznych wirusów, bakterii i grzybów według wynalazku, ilustrują poniższe przykłady:

P r z y k ł a d 1

Preparat BTHWA nie działa bezpośrednio na infekcyjność wirusa mozaiki tytoniu (*Tobacco mosaic virus*, TMV).

Oczyszczony wirus mozaiki tytoniu, (TMV) w stężeniu ok. 3 µg/ml zmieszano z preparatem BTHWA (stężenie 40 mg/L), w stosunku 1:1 i inkubowano przez 30 min w temperaturze pokojowej. Kontrolę stanowił TMV inkubowany w wodzie. Oboma zawiesinami wirusów mechanicznie zakażano liście tytoniu odm. Xanthi, które w reakcji produkują łatwo policzalne lokalne nekrotyczne plamy (nadwrażliwość, lokalna infekcja). Po 5 dniach porównano liczby plam w obu kombinacjach, wyniku czego

określono różnice tylko na 12%, co pozwala wnioskować, że preparat nie oddziałuje bezpośrednio na infekcyjność TMV.

Przykład 2

Preparat BTHWA nie działa bezpośrednio na infekcyjność bakterii (*Pseudomonas syringe* pv. *tomato*).

Postępowano jak w przykładzie 1, testowi poddano bakterie *Pseudomonas syringe* pv. *Tomato*, które następnie były inkubowane na pożywce bakteriowej. Po 2 dniach porównano stężenie bakterii na płytkach, w wyniku czego określono różnice na poziomie <5%, co pozwala wnioskować, że preparat nie oddziałuje bezpośrednio na infekcyjność bakterii.

Przykład 3

Preparat BTHWA nie działa bezpośrednio na infekcyjność grzybiczną (*Mączniak prawdziwy*).

Postępowano jak w przykładzie 1, testowi poddano grzyb *Mączniak prawdziwy*, który następnie był inkubowany na pożywce. Po 2 dniach porównano wyniki testu i kontroli, w wyniku czego określono różnice na poziomie <5%, co pozwala wnioskować, że preparat nie oddziałuje bezpośrednio na infekcyjność grzybiczną.

Przykład 4

BTHWA stosowany do korzeni rośliny (podlewanie) bardzo efektywnie chroni przed stresem biotycznym powodowanym infekcją wirusową.

Rośliny tytoniu (*Nicotiana tabacum*) odm. Xanthi w stadium trzech rozwiniętych liści, dwukrotnie podlewano roztworem BTHWA o stężeniu 10 mg/L, w jednodobnych odstępach czasu. Kontrolę stanowiły rośliny tytoniu podlewane tylko wodą. Tydzień po drugim traktowaniu roślin preparatem, przeprowadzono mechaniczne zakażenie liści wirusem mozaiki tytoniu (*Tobacco Mosaic Virus*, TMV). Polegało ono na kilkukrotnym pocieraniu liści posypanych karborundem palcami maczanymi w zawiesinie oczyszczonego wirusa o stężeniu ok. 2 µg/ml. Do oceny efektywności BTHWA w ochronie przed stresem biotycznym wykorzystano model TMV i tytoń odm. Xanthi charakteryzujący się interakcją w postaci zjawiska nadwrażliwości czyli powstawania łatwo policzalnych plam nekrotycznych. Z porównania liczby plam na liściach roślin kontrolnych i traktowanych BTHWA wynika, że podawanie preparatu do korzeni roślin tytoniu całkowicie ogranicza wpływ czynnika biotycznego – infekcji wirusowej – na roślinę, co zostało przedstawione na fig. 1.

Przykład 5

BTHWA stosowany przez opryskiwanie liści bardzo efektywnie zapobiega występowaniu stresu biotycznego powodowanego infekcją wirusową.

Postępowano jak w przykładzie 4, przy czym rośliny immunizowano poprzez dwukrotne opryskiwanie w tygodniowych odstępach czasu, roztworem BTHWA o stężeniu 10 mg/L. BTHWA całkowicie chronił traktowane liście przed stresem biotycznym powodowanym przez infekcję TMV.

Przykład 6

Preparat BTHWA jest efektywniejszy w zapobieganiu występowania stresu biotycznego powodowanego infekcją wirusową niż materiał porównawczy, komercyjnie dostępny preparat BION™

Rośliny tytoniu (*Nicotiana tabacum*) odm. Xanthi w stadium trzech rozwiniętych liści jednokrotnie opryskano roztworami BTHWA lub BION™ o stężeniu 20 mg/L. Tydzień później zakażono je mechanicznie TMV poprzez pocieranie liści placem maczanym w zawiesinie oczyszczonego wirusa, o stężeniu ok. 2 µg/ml. Poziom ochrony przed wpływem stresu biotycznego oceniono poprzez porównanie liczby plam nekrotycznych powodowanych przez TMV na liściach roślin traktowanych BTHWA i BION™ oraz roślin kontrolnych. Z badań wynika, że już przy stężeniu 20 mg/L preparat BTHWA był efektywniejszy w zapobieganiu występowania stresu biotycznego.

W tabeli 1 przedstawiono ilość plam nekrotycznych powstałych na skutek infekcji wirusem na roślinach poddanych ekspozycji na BTHWA oraz BION™ porównane do kontroli. Zmniejszenie ilości plam nekrotycznych wskazuje na ochronę przed wpływem czynnika biotycznego na roślinę.

Tabela 1

Kombinacja	Średnia liczba lokalnych plam nekrotycznych/liść	Redukcja ilości plam nekrotycznych (%)
Kontrola	232	-
BTHWA, 20 mg/L	0	100
BTH, 20 mg/L	40,4	82,6

Przykład 7

Ochrona przed stresem biotycznym zachowuje wysoką efektywność jeszcze po 21 dniach od ostatniego zastosowania preparatu (BTHWA) i występuje na kolejnych poziomach liści traktowanych roślin.

Postępowano jak w przykładzie 4, przy czym traktowane i kontrolne rośliny podzielono na 3 partie i ich liście zakażano wirusem, odpowiednio, 1, 2 i 3 tygodnie po ostatnim zabiegu. Wyniki badań wykazały, że ochrona przed stresem biotycznym następującym po infekcji wirusem TMV była w pełni efektywna w 3 tygodnie po ostatnim podlaniu roślin preparatem i występowała na 6–7 kolejnym liściu. Podobny efekt wystąpił w przypadku opryskiwania.

Przykład 8

Ochrona przed stresem biotycznym w jęczmieniu ozimym w następstwie infekcji wirusa mozaiki owsa (*Brome Mosaic Virus, BMV*).

Rośliny jęczmienia w doniczkach o średnicy 10 cm dwukrotnie, w odstępach tygodniowych podlewano 70 ml roztworu BTHWA o stężeniu 20 mg/L. Kontrolę stanowiły rośliny jęczmienia podlewane wodą. W następnym tygodniu po drugim podlaniu roślin BTHWA, jeden młody rozwinięty liść posypano karborundem dla uzyskania drobnych ranek, przez które wprowadzano wirusa w trakcie mechanicznego zakażenia liścia palcem maczanym w oczyszczonej zawieszynie BMV, o stężeniu ok. 10 µg/L. Dwa tygodnie później, na podstawie objawów chorobowych ustalono, że w porównaniu z kontrolą wszystkie traktowane rośliny jęczmienia nie wykazywały efektów występowania stresu biotycznego.

Przykład 9

Wpływ stężenia BTHWA na efektywność ochrony przed stresem biotycznym w jęczmieniu.

Postępowano jak w przykładzie 8, przy czym rośliny traktowano (podlewano) roztworem BTHWA o stężeniu 10 mg/L. BTHWA także w niższym stężeniu zapobiegał stresowi biotycznemu w następstwie infekcji BMV na poziomie 65%.

Przykład 10

Ochrona przed stresem biotycznym na tytoniu (*Nicotiana tabacum*) odm. Xanthi w następstwie infekcji bakterii *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, poprzez podlewanie roślin.

Rośliny tytoniu w stadium 3 rozwiniętych liści dwukrotnie, w tygodniowym odstępie czasu, podlano roztworem BTHWA o stężeniu 20 mg/L. Kontrolę stanowiły rośliny tytoniu podlewane tylko wodą. W tydzień po drugim traktowaniu do liści punktowo wprowadzono za pomocą strzykawki insulinowej (bez igły) zawieszinę bakterii *Pst* o stężeniu 10⁵. Zawieszinę przygotowano z dwudniowej hodowli *Pst* na pożywce stałej. Ochronę przed stresem biotycznym oceniano na podstawie namnażania się bakterii w liściach w miejscu ich wprowadzenia i tworzeniu nekrotycznej plamy, w porównaniu z kontrolą. W efekcie stosowania BTHWA na roślinach traktowanych nie obserwowano nawiązania się infekcji bakteryjnej i powstawania nekrotycznych plam podobnych do obserwowanych w kontroli.

Przykład 11

Ochrona przed stresem biotycznym na tytoniu (*Nicotiana tabacum*) odm. Xanthi w następstwie infekcji bakterii *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, poprzez opryskiwanie roślin.

Postępowano jak w przykładzie 10, przy czym rośliny opryskiwano BTHWA o stężeniu 20 mg/L. Dwukrotne opryskiwanie zapobiega stresowi biotycznemu, w pełni chroniąc tytoń przed skutkami wystąpienia infekcji bakteryjnej.

Przykład 12

Wpływ stężenia BTHWA na efektywność zapobiegania stresowi biotycznemu na tytoniu w następstwie infekcji bakterii *Pseudomonas syringae* pv. *Tomato*.

Postępowano jak w przykładzie 10 i 11, przy czym stosowano preparat BTHWA o stężeniu 10 mg/L. Preparat stosowany przez podlewanie i opryskiwanie zapobiegał stresowi biotycznemu, całkowicie chroniąc traktowane rośliny przed skutkami infekcji bakteryjnej.

Przykład 13**Efektywność zapobiegania stresowi biotycznemu przez BTHWA przy podwyższonym stężeniu komórek bakteryjnych *Pseudomonas syringe* pv. *tomato*.**

Postępowano jak w przykładzie 10, przy czym skuteczność ochrony przed stresem biotycznym testowano względem stężenia komórek bakteryjnych podniesionego do ok. 10^6 . Bakteria *Pst* w roślinach traktowanych BTHWA podjęła nieznaczną aktywność ale skutki infekcji zostały zahamowane i nie powstały lokalne nekrotyczne plamy jako charakterystyczny efekt namnażania się bakterii.

Przykład 14**Ochrona przed stresem biotycznym w pomidorze w następstwie infekcji bakterii *Pseudomonas syringe* pv. *tomato*, poprzez podlewanie roślin.**

Rośliny pomidora, w fazie pierwszej pary rozwiniętych prawdziwych liści, podlano dwukrotnie roztworem BTHWA o stężeniu 20 mg/L, w tygodniowym odstępie czasu. Kontrolę stanowiły rośliny pomidora podlewane tylko wodą. W tydzień po drugim traktowaniu do liści punktowo wprowadzono za pomocą strzykawki insulinowej (bez igły) zawiesinę bakterii *Pst* o stężeniu 10^5 . Zawiesinę przygotowano z dwudniowej hodowli *Pst* na pożywce stałej. Ochronę przed stresem biotycznym oceniano na podstawie namnażania się bakterii w liściach w miejscu ich wprowadzenia i tworzenia nekrotycznej plamy, w porównaniu z kontrolą. W efekcie stosowania BTHWA na roślinach traktowanych nie obserwowano nawiązania się infekcji bakteryjnej i powstawania nekrotycznych plam podobnych do obserwowanych w kontroli.

Przykład 15**Ochrona przed stresem biotycznym w pomidorze *Lycopersicon Esculentum* Mill w następstwie infekcji bakterii *Pseudomonas Syringe* pv. *Tomato*, poprzez opryskiwanie roślin.**

Postępowano jak w przykładzie 14, przy czym rośliny opryskiwano. BTHWA o stężeniu 20 mg/L stosowany poprzez dwukrotne opryskiwanie zapobiega stresowi biotycznemu, w pełni chroniąc pomidora przed skutkami infekcji bakteryjnej.

Przykład 16**Ochrona przed stresem biotycznym w pomidorze w następstwie infekcji grzybiczej *Mączniaka prawdziwego* poprzez podlewanie roślin.**

Rośliny pomidora, w fazie pierwszej pary rozwiniętych prawdziwych liści, podlano dwukrotnie roztworem BTHWA o stężeniu 20 mg/L, w tygodniowym odstępie czasu. Kontrolę stanowiły rośliny pomidora podlewane tylko wodą. W tydzień po drugim traktowaniu do liści punktowo wprowadzono za pomocą strzykawki insulinowej (bez igły) zawiesinę grzyba *Mączniaka prawdziwego*. Zawiesinę przygotowano z hodowli na pożywce stałej. Ochronę przed stresem biotycznym oceniano na podstawie porównania powierzchni liści objętych infekcją. W efekcie stosowania BTHWA na roślinach traktowanych nie obserwowano nawiązania się infekcji grzybiczej (do 95%) i powstawania powierzchni zainfekowanych podobnych do obserwowanych w kontroli, co zostało przedstawione na fig. 2.

Przykład 17**Ochrona przed stresem biotycznym w pomidorze *Lycopersicon Esculentum* Mill w następstwie infekcji grzybiczej *Mączniaka prawdziwego*, poprzez opryskiwanie roślin.**

Postępowano jak w przykładzie 16, przy czym rośliny opryskiwano. BTHWA o stężeniu 20 mg/L, stosowany poprzez dwukrotne opryskiwanie zapobiega przed stresem biotycznym w pełni chroniąc pomidora przed skutkami infekcji grzybiczej. (Figura 2)

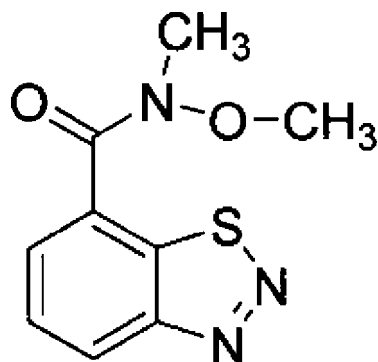
Przykład 18**Wpływ stężenia BTHWA na efektywność zapobiegania stresowi biotycznemu w pomidorze na skutek infekcji grzybiczej *Mączniaka prawdziwego*.**

Postępowano jak w przykładzie 16 i 17, przy czym stosowano preparat BTHWA o stężeniu 10 mg/L. Preparat stosowany przez podlewanie i opryskiwanie zapobiega stresowi biotycznemu, całkowicie chroniąc traktowane rośliny przed skutkami infekcji grzybiczej. Jest to o tyle istotne, że preparat w wyższej koncentracji może mieć efekt fitotoksyczny dla pomidora, przejawiający się lekkim zahamowaniem wzrostu roślin.

Zastrzeżenia patentowe

1. Zastosowanie N-metylo N-metoksyamidu-7-karboxybenzo[1,2,3]tiadiazolu o wzorze ogólnym 1, jako substancji zapobiegającej skutkom stresu biotycznego takiego jak działanie patogenicznych wirusów, bakterii i grzybów.
2. Zastosowanie według zastrz. 1, **znamiennie tym**, że substancję zapobiegającą skutkom stresu biotycznego takiego jak działanie patogenicznych wirusów, bakterii i grzybów stosuje się w postaci roztworu wodnego.
3. Zastosowanie według zastrz. 1, **znamiennie tym**, że substancję zapobiegającą skutkom stresu biotycznego takiego jak działanie patogenicznych wirusów, bakterii i grzybów stosuje się w postaci roztworu w rozpuszczalniku organicznym.
4. Zastosowanie według zastrz. 1, **znamiennie tym**, że substancję zapobiegającą skutkom stresu biotycznego takiego jak działanie patogenicznych wirusów, bakterii i grzybów stosuje się w postaci mieszaniny rozpuszczalników organicznych i nieorganicznych a zwłaszcza w układach woda-alkohol w proporcjach od 0 do 100% jednego ze składników.
5. Zastosowanie według zastrz. 1, **znamiennie tym**, że substancję zapobiegającą skutkom stresu biotycznego takiego jak działanie patogenicznych wirusów, bakterii i grzybów stosuje się w postaci emulsji stanowiącej substancję enkapsulowaną i zawieszoną w roztworze.
6. Zastosowanie według zastrz. 1, 2, 3, 4, 5, **znamiennie tym**, że substancję zapobiegającą skutkom stresu biotycznego takiego jak działanie patogenicznych wirusów, bakterii i grzybów stosuje się w roztworach o stężeniu substancji aktywnej w ilości 0,001–300 mg/L, korzystnie 0,01–100 mg/l.
7. Zastosowanie według zastrz., 1, 2, 3, 4, 5, **znamiennie tym**, że do substancji zapobiegającej skutkom stresu biotycznego takiego jak działanie patogenicznych wirusów, bakterii i grzybów dodaje się adiuwantu w ilości poniżej 10% objętości roztworu cieczy roboczej.

Rysunki



Wzór 1

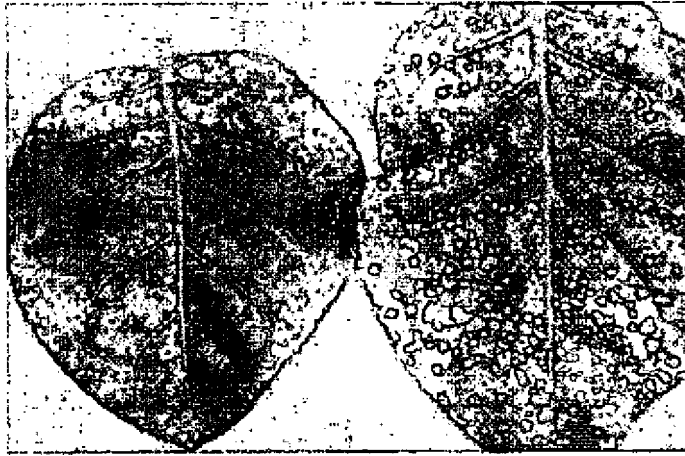


Fig. 1



Fig. 2