

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

Zveřejněná podle §31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

2013-146

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.:

A01N 37/44 (2006.01)

A01N 55/08 (2006.01)

A01N 37/46 (2006.01)

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **27.02.2013**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **11.06.2014**
(Věstník č. 24/2014)

(71) Přihlašovatel:
AGRA GROUP, a.s., Střelské Hoštice, CZ

(74) Zástupce:
Inventia s.r.o., RNDr. Kateřina Hartvichová, Na
Bělidle 3, 150 00 Praha 5

(54) Název přihlášky vynálezu:
**Přípravek pro ochranu rostlin proti mrazu
a způsob ochrany rostlin**

(57) Anotace:
Řešení poskytuje přípravek pro ochranu rostlin proti
mrazu obsahující alespoň jeden
acylamidopropyltrimethylbetain a alespoň jeden
aminoborát. Řešení dále popisuje způsob aplikace těchto
přípravků.

Přípravek pro ochranu rostlin proti mrazu a způsob ochrany rostlin

Oblast techniky

Vynález se týká přípravků a metod pro ochranu rostlin před negativními účinky mrazu, tedy zvyšování jejich odolnosti před poškozením při teplotách nižších než 0 °C.

Dosavadní stav techniky

Pokud jsou rostliny vystaveny účinkům mrazu, mohou být poškozeny tvorbou krystalů ledu, který vzniká v mezibuněčném prostoru. K poškození dochází především v jarním období, kdy dochází k tzv. pozdním jarním mrazíkům nebo na podzim při tzv. časných podzimních mrazících. Ekonomicky nejvýznamnější jsou pozdní jarní mrazíky, neboť rostliny jsou v době intenzivního růstu nejcitlivější. I když dojde k zotavení rostlin, jsou pak slabší, náchylnější k houbovým infekcím a jejich odumřelé části mohou být druhotně napadány saprofytickými mikroorganismy.

Tvorba krystalů je řízena termodynamicky i kineticky a lze ji ovlivnit oběma přístupy. Zatímco termodynamicky lze snížit ^{teplotu} bod tání vodných roztoků změnou jejich koligativních vlastností (přídavkem teoreticky jakékoliv netěkavé látky), kineticky lze ovlivnit rychlost tvorby krystalů. Je známo, že voda nebo vodné roztoky mohou dosáhnout stavu přechlazení, kdy stále existují ve formě kapaliny při teplotě nižší, než je jejich ^{teplota} bod tání. Ke tvorbě ledu z přechlazeného roztoku pak dochází buď spontánní krystalizací, nebo účinkem katalyzátorů nukleace ledu. Pokud ke tvorbě ledu nedochází, mohou být některé rostliny vystaveny bez poškození teplotám až kolem -9 °C (v závislosti na druhu rostliny). Nejčastějším zdrojem katalyzátorů nukleace ledu v přírodě jsou bakterie indukující tvorbu krystalizačních jader ledu (INB, ice-nucleating bacteria) (Gurian-Sherman D. and Lindow S. E., FASEB J., 1993, 7(14), 1338-1343; Christner B. C. et al., Science, 2008, 319, 1214). Tyto bakterie (např. *Erwinia herbicola* nebo *Pseudomonas syringae*) jsou přítomny na povrchu rostlin a jejich přítomnost zvyšuje teplotu krystalizace ledu o několik °C. Tento teplotní posun hraje klíčovou roli v odolnosti rostlin a deaktivací těchto bakterií lze dosáhnout zvýšení odolnosti rostlin k účinkům mrazu (Holt C. B., CryoLetters, 2003, 24, 269-274).

Rostliny jsou obecně ošetřeny látkami se širokospektrými baktericidními účinky, jako jsou antibiotika, látky oxidativního charakteru (NaClO, NaClO₂, peroxid močoviny), sloučeniny

na bázi mědi apod. Chloritan sodný (NaClO_2) vykazoval účinnost k deaktivaci INB (US 4834899), za problematické však může být považováno vyvolání oxidativního stresu v rostlinách po postřiku. Podobným způsobem je používán peroxid močoviny (US 5079868), který je nestabilní a musí být při formulaci stabilizován dalšími chemikáliemi. Jinou možností deaktivace INB, která má ovšem obtížně predikovatelné ekologické následky, je aplikace jiných druhů bakterií na povrch rostlin, které mohou INB populačně vytěsnit (US 4045910, US 4161084, US 4432160), popř. aplikace virulentních bakteriofágů, které selektivně napadají INB (US 4375734).

Deaktivací INB roztoky kvarterních ammoniových surfaktantů, které jsou aplikovány na nadzemní části rostlin, se zabývá patent EP 0037593. Patent ukazuje inhibiční účinky ammoniových surfaktantů na dva kmeny INB v laboratorních podmínkách, avšak nedemonstruje praktickou účinnost pro rostliny, vhodné dávky surfaktantů, ani hranici fytotoxicity.

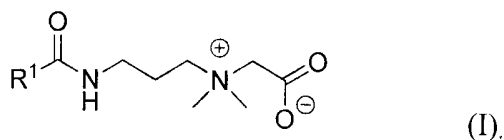
Další možností, jak zpomalit tvorbu ledových krystalů v rostlině, je aplikace látek, které snižují ^{teplotu} bod tání roztoku a zároveň snižují teplotu, při které dochází k nukleaci ledu. Látek, u kterých je teplota snížení nukleace nižší než vlastní termodynamický efekt snížení ^{teploty} bod tání roztoku (tedy ovlivnění koligativních vlastností roztoku), existuje celá řada (např. sacharóza, chlorid sodný, glycerol, glukóza, močovina, ethylen glykol, polyethylen glykol nebo polyvinyl pyrrolidon) (Holt C. B., CryoLetters, 2003, 24, 269-274). Na této bázi řeší problém US 4618442, kdy jsou jako kryoprotektanty používány blokové kopolymery polyoxyethylenu a polyoxypropylenu, a US 5124061, využívající soli cholinu s monokarboxylovými a polykarboxylovými kyselinami. Látky tohoto typu je potřeba aplikovat ve vysokých dávkách a ochranný efekt není v praxi příliš spolehlivý a reprodukovatelný, protože teplota nukleace významně závisí také na přítomnosti a koncentraci INB.

Samotná deaktivace INB, stejně jako aplikace látek snižujících ^{teplotu} bod tání roztoku a/nebo teplotu nukleace ledu poskytují samy o sobě pro rostliny pouze limitovanou ochranu. Přetrvává proto potřeba získání nových kryoprotektivních přípravků pro ochranu rostlin, které nebudou fytotoxické, budou vysoce účinné, biodegradovatelné a ekologicky vyhovující, stejně jako metod jejich aplikace.

Podstata vynálezu

Problém dosavadního stavu techniky řeší předkládaný vynález poskytnutím složení, přípravy a způsobu aplikace přípravků pro ochranu rostlin před negativními účinky mrazu, obsahujících alkylamidopropyldimethylbetainy a aminoboráty, které vznikají reakcí kyseliny borité s alkanolaminy.

Předmětem předkládaného vynálezu je přípravek obsahující alespoň jednu látku obecného vzorce (I),



kde R¹ je C₈-C₂₀ alkyl nebo C₈-C₂₀ alkenyl, a alespoň jeden aminoborát.

Aminoborát je produkt reakce kyseliny borité s alkanolaminem, přičemž alkanolamin je charakterizován obecným vzorcem (II)



kde R² je nasycený C₂-C₄ uhlovodíkový řetězec, případně substituovaný hydroxyskupinou nebo aminoskupinou na kterémkoliv atomu uhlíku s výjimkou geminální substituce (tedy hydroxyskupina a aminoskupina nesmí být navázána na stejném atomu uhlíku), a R³ a R⁴ jsou nezávisle na sobě vodík nebo -R²-OH.

OH skupina může být k substituentu R² vázána na kterémkoliv jeho atomu uhlíku.

Ve sloučenině obecného vzorce (I) (acylamidopropyldimethylbetainu) může být R¹ odvozeno od přírodních lipofilních karboxylových kyselin přítomných v prekurzorech jako je kokosový olej, hydrogenovaný kokosový olej, lůj, hydrogenovaný lůj, palmový olej apod., takže látka obecného vzorce (I) může být tvořená směsí sloučenin, ve kterých složení alkylových a alkenylových R¹ odpovídá složení přírodních mastných kyselin z daného prekurzoru. Mezi tyto kyseliny řadíme např. kyselinu kaprylovou, kaprinovou, laurovou, myristovou, palmitovou, stearovou, palmitoolejovou nebo olejovou.

S výhodou je látka obecného vzorce (I) vybraná ze skupiny zahrnující kokoamidopropyldimethylbetain, oleylamidopropyldimethylbetain, laurylamidopropyldimethylbetain.

Aminoboráty vznikající reakcí kyseliny borité s alkanolaminem, přičemž alkanolamin je charakterizován obecným vzorcem (II), jsou známy jako hnojiva obsahující bór. Jejich příprava spočívá v zahřívání směsi kyseliny borité, příslušného alkanolaminu a vody a popisuje ji patent US 4832609. Vodné roztoky těchto aminoborátů obsahují celou řadu částic (protonované i volné alkanolaminy, různé polyborátové anionty, estery kyseliny borité s hydroxyskupinami alkanolaminů) a jejich rovnovážné složení je ovlivněno pH, koncentrací jednotlivých složek i obsahem vody v systému. Ačkoliv lze některé složky roztoku izolovat v krystalickém stavu (Schubert D. M., Inorg. Chem., 2008, 47, 2017-2023), v případě tohoto vynálezu jsou používány vždy vodné roztoky aminoborátů, jejichž složení lze specifikovat pouze vstupními surovinami (tj. kyselinou boritou a alkanolaminem), popřípadě i jejich molárními poměry.

S výhodou jsou aminoboráty produktem reakce kyseliny borité s alkanolaminem v molárních poměrech kyselina boritá:alkanolamin 1:1 až 6:1, přičemž ve výhodném provedení jsou molární poměry v rozmezí 2,5:1 až 3,5:1.

Kyselinou boritou se rozumí libovolná z následujících forem, které se liší stupněm dehydratace: kyselina trihydrogenboritá, H_3BO_3 , kyselina metaboritá, HBO_2 , kyselina tetraboritá, $H_2B_4O_7$ a oxid boritý, B_2O_3 , případně jejich směs. S výhodou je kyselinou boritou kyselina trihydrogenboritá.

S výhodou je alkanolamin obecného vzorce (II) vybrán ze skupiny zahrnující ethanolamin, diethanolamin, triethanolamin, 2-amino-1-propanol, 1-amino-2-propanol, diisopropanolamin a 1-amino-2-butanol. Nejvýhodněji je alkanolaminem ethanolamin.

Předmětem předkládaného vynálezu je dále způsob ochrany rostlin před negativními účinky mrazu, jehož podstata spočívá v tom, že se na nadzemní části rostlin jako jsou listy, květy, plody nebo stonky, aplikuje přípravek obsahující alespoň jednu látku obecného vzorce (I) a alespoň jeden aminoborát ve formě roztoku.

Přípravek může dále obsahovat další látky jako např. rozpouštědla, protipěnové složky, barviva, stabilizátory, pomocné látky apod. Přípravek může dále obsahovat regulátory růstu, hnojiva, antioxidanty, fungicidy, insekticidy, obecně látky běžné používané v zemědělství. Rozpouštědly se rozumí hydrofilní rozpouštědla, jako např. propylenglykol, ethanol, tetrahydrofurfurylalkohol. Protipěnovou látkou (neboli odpěňovačem), se rozumí jakákoliv látka, která snižuje stabilitu pěny. S výhodou je možné použít sloučeniny na bázi silikonů. Pomocnými látkami se rozumí adheziva, pojidla a reologické modifikátory.

Po aplikaci jsou rostliny ochráněny při teplotách mezi 0 a -10 °C, s výhodou mezi 0 a -6 °C. Aplikaci je vhodné provádět po předpovědi snížení teploty ^{teplotu} pod bod mrazu, tedy několik dní až několik hodin před příchodem mrazu. Nejlépe je aplikaci provádět 3 dny až 12 hodin před příchodem mrazu. Aplikace v akutním případě může být provedena i během noci, při které došlo k mrznutí. Přípravkem mohou být preventivně chráněny rostliny zdravé i rostliny mrazem již částečně poškozené. Aplikaci je možné provádět podle potřeby i vícekrát.

Přípravek je možné použít na rostliny, které jsou citlivé k působení mrazu, např. k ochraně zemědělských plodin jako jsou ovocné plodiny (např. réva vinná, jabloň, hrušeň, meruňka, broskvoň, slivoň, višně, třešeň, ořešák, rybíz, angrešt, kávovník, kakovník, mandloň a citrusy, např. pomerančovník, mandarinkovník, citrónovník, limeta, kumquat, grepfruit, pomelo), polní rostliny (např. brambory, řepa cukrová, kukuřice, mák setý, slunečnice roční), zelenina (rajče, paprika roční, zelí hlávkové, kapusta hlávková, květák, brokolice, kedluben, celer bulvový, řepa salátová, lilek vejcoplodý, okurka, tykev, salát, zelí čínské, zelí pekinské, meloun vodní, meloun cukrový) a k ochraně okrasných rostlin, u kterých lze vzhledem k jejich biologii předpokládat ohrožení mrazem.

Přípravek může být aplikován v dávce sloučeniny obecného vzorce (I) v rozmezí 5 až 500 g/ha, s výhodou 10 až 250 g/ha, nejvýhodněji 20 až 100 g/ha. Aminoboráty mohou být aplikovány v dávce odpovídající 5 až 500 g bóru/ha, s výhodou 20 až 350 g bóru/ha, nejvýhodněji 50 až 200 g bóru/ha.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

Výroba přípravků

Přípravky A až C byly vyrobeny z následujících surovin důkladným rozmícháním a rozpuštěním účinných složek ve vodě.

Surovina	Formulace [hm. %]		
	A	B	C
Kokoamidopropyl dimethylbetain (30 % vodný roztok)	10,6		
Oleylamidopropyl dimethylbetain (30 % vodný roztok)		10,6	
Laurylamidopropyl dimethylbetain (30 % vodný roztok)			10,6
Roztok aminoborátu vzniklého reakcí kyseliny trihydrogenborité s ethanolaminem v molárním poměru 3,2:1 (15 hm. % bóru)	72,9	72,9	72,9
Voda	16,5	16,5	16,5

Příklad 2

Test účinnosti na paprice roční

Na rostliny papriky roční (odrůda Korál) rostoucí v kultivačních nádobách byl 24 h_{bd} před zahájením pokusu foliárně aplikován přípravek A podle příkladu 1 formou postřiku o koncentraci 3 ml/l. Aplikace byla provedena zádovním postřikovačem do prvního skanutí postřikové kapaliny. Jako negativní kontrola byly použity rostliny postříkané vodou. Každá z variant byla provedena v triplicátech.

Noc před vlastním provedením pokusu byly rostliny umístěny do tmavé a chladné místnosti. Ráno byly exponované varianty přeneseny do kryoboxu, kde byla přednastavena teplota 0 °C a kde byla zachována tma.

Snižování teploty probíhalo 2 h_{bd}, při teplotním gradientu 3 °C/h_{bd}. Po dosažení -6 °C trvala expozice 1 hodinu. Poté bylo provedeno postupné zvyšování teploty s gradientem 6 °C/h_{bd}, až do dosažení teploty +6 °C. Celková doba expozice při teplotě nižší než 0 °C tak byla součtem doby snižování teploty (2 h_{bd}), vlastní doby při nastavené teplotě (1 h_{bd}) a doby zvyšování teploty (1 h_{bd}), tedy celkem 4 h_{bd}. Po vybrání byly rostliny přeneseny opět do chladné, ale tentokrát už osvětlené místnosti, aby se minimalizoval teplotní šok, a tam byly ponechány cca 3 h_{bd}. Poté byly vystaveny normálním venkovním podmínkám. Posouzení

vzhledu rostlin bylo provedeno ihned a pak v pravidelných intervalech po dobu následujících 10 dnů.

Všechny kontrolní rostliny vykazovaly typické projevy poškození mrazem (zhnědnutí, ztráta turgoru – zvadnutí, nekrózy) a do druhého dne uhynuly. Rostliny ošetřené přípravkem A nejevily známky poškození a až do ukončení experimentu (10 dní po expozici mrazu) rostly normálně.

Příklad 3

Test účinnosti na rajčatech

Na rostlinách rajčete tyčkového (odrůda Tipo F1) byl proveden stejný experiment jako s paprikou v Příkladu 3 s tím rozdílem, že snižování teploty probíhalo 2 hod při teplotním gradientu $2\text{ }^{\circ}\text{C/hod}$. Po dosažení $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ trvala expozice 1 hodinu. Poté bylo provedeno postupné zvyšování teploty s gradientem $4\text{ }^{\circ}\text{C/hod}$ až do dosažení teploty $+6\text{ }^{\circ}\text{C}$. Celková doba expozice při teplotě nižší než $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ tak byla součtem doby snižování teploty (2 hod), vlastní doby při nastavené teplotě (1 hod.) a doby zvyšování teploty (1 hod), tedy celkem 4 hod.

Všechny kontrolní rostliny vykazovaly typické projevy poškození mrazem (zhnědnutí, ztráta turgoru – zvadnutí, nekrózy) a do druhého dne uhynuly. Rostliny ošetřené přípravkem A nejevily známky poškození a až do ukončení experimentu (10 dní po expozici mrazu) rostly normálně.

Příklad 4

Fytotoxicita přípravku

Na rostliny papriky roční a rajčete tyčkového byl aplikován přípravek A stejným způsobem jako u příkladu 2 s tím, že rostliny nebyly exponovány mrazu. Byl vyhodnocen zdravotní stav rostlin. Do 10 dnů od aplikace nebylo zjištěno žádné fytotoxické působení.

Sledována byla také fytotoxicita při opakovaných aplikacích. Při aplikaci 2x po sobě a 3x po sobě v rozmezí 24 hod vždy ve stejné dávce jako v Příkladu 1 nebyly na rostlinách zjištěny žádné fytotoxické příznaky.

Na jiné skupině rostlin byl proveden analogický experiment shodný s výše popsáním sledováním fytotoxicity při opakovaných aplikacích, avšak rostliny byly vystaveny mrazu (za

příslušných identických podmínek jako v Příkladech 2 a 3). Ochrana proti působení mrazu byla stejně úspěšná jako v Příkladech 2 a 3 a ani po třech postupných aplikacích nebyly pozorovány příznaky fytotoxicity.

Příklad 5

Test účinnosti na révě vinné v polních podmínkách

Vinice ve Znojenské vinařské podoblasti o ploše cca 1 ha byla 12 hodin před příchodem mrazu ošetřena přípravkem A podle Příkladu 1. Přípravek byl aplikován formou foliárního postřiku v aplikační dávce 1500 ml/ha a dávce postřikové kapaliny 600 l/ha. Jako negativní kontrola byly použity rostliny postříkané vodou. Teplota v noci klesla na -3°C .

U kontrolní varianty bylo mrazové poškození patrné již 48 hodin po příchodu mrazu: celá aktuálně vyvinutá listová plocha byla zničena. Rostliny této kontrolní varianty později vyrašily znovu z podoček, což způsobilo podstatné zpomalení růstu a vývoje rostlin. U ošetřené varianty bylo pozorovatelné pouze mírné poškození listů mrazem, které bylo v průběhu vegetace plně regenerováno.

Zvýšení výnosu u ošetřené varianty ve srovnání s neošetřenou činilo 41 %. U ošetřené varianty byla vlivem časového posunutí vegetace také zvýšena cukernatost o 7 % (ze $21,7^{\circ}\text{NM}$ u neošetřené varianty na $23,2^{\circ}\text{NM}$ u varianty ošetřené (NM = Československý normalizovaný moštoměr; $1^{\circ}\text{NM} = 1 \text{ kg cukru}/100 \text{ l moštu}$).

Příklad 6

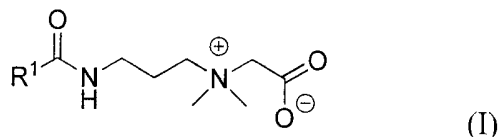
Test účinnosti v jabloňovém sadu

Jabloňový sad o ploše 0,32 ha byl v 16 hodin odpoledne před mrazivou nocí ošetřen přípravkem A podle Příkladu 1. Přípravek byl aplikován formou foliárního postřiku v aplikační dávce 1500 ml/ha a dávce postřikové kapaliny 800 l/ha. Jako negativní kontrola byly použity stromy postříkané vodou. Teplota v noci klesla na -3°C .

U neošetřené varianty došlo po mrazovém poškození k částečnému opadu plůdků a poškození mladých listů. U ošetřené varianty se negativní účinky mrazu neprojevíly. Zvýšení výnosu u ošetřené varianty ve srovnání s neošetřenou činilo 27 %.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Přípravek pro ochranu rostlin proti mrazu, vyznačený tím, že obsahuje alespoň jednu látku obecného vzorce (I),



kde R^1 je C_8 - C_{20} alkyl nebo C_8 - C_{20} alkenyl, a
alespoň jeden aminoborát připravitelný reakcí kyseliny borité s alkanolaminem obecného vzorce (II)



kde R^2 je nasycený C_2 - C_4 uhlovodíkový řetězec, případně substituovaný hydroxyskupinou nebo aminoskupinou na kterémkoliv atomu uhlíku s výjimkou geminální substituce, a
 R^3 a R^4 jsou nezávisle na sobě vodík nebo $-R^2-OH$.

2. Přípravek podle nároku 1, vyznačený tím, že R^1 je odvozeno od přírodních lipofilních karboxylových kyselin přítomných v prekurzorech vybraných ze skupiny zahrnující kokosový olej, hydrogenovaný kokosový olej, lůj, hydrogenovaný lůj, palmový olej.

3. Přípravek podle nároku 1, vyznačený tím, že R^1 je odvozeno od kyseliny vybrané ze skupiny zahrnující kyseliny kaprylovou, kaprinovou, laurovou, myristovou, palmitovou, stearovou, palmitoolejovou a olejovou.

4. Přípravek podle nároku 1, vyznačený tím, že látka obecného vzorce (I) je vybraná ze skupiny zahrnující kokoamidopropyl dimethylbetain, oleylamidopropyl dimethylbetain, laurylamidopropyl dimethylbetain.

5. Přípravek podle nároku 1, vyznačený tím, že aminoboráty jsou připraveny reakcí kyseliny borité s alkanolaminem v molárních poměrech kyselina boritá:alkanolamin 1:1 až 6:1, s výhodou jsou molární poměry v rozmezí 2,5:1 až 3,5:1.

6. Přípravek podle nároku 1 nebo 5, vyznačený tím, že alkanolamin obecného vzorce (II) je vybrán ze skupiny zahrnující ethanolamin, diethanolamin, triethanolamin, 2-amino-1-propanol, 1-amino-2-propanol, diisopropanolamin a 1-amino-2-butanol.
7. Způsob ochrany rostlin před negativními účinky mrazu, vyznačený tím, že se na nadzemní části rostlin aplikuje přípravek obsahující alespoň jednu látku obecného vzorce (I) a alespoň jeden aminoborát definovaný v nároku 1 ve formě roztoku.
8. Způsob podle nároku 7, vyznačený tím, že se aplikace provádí jednorázově nebo opakovaně 3 dny až 12 hodin před příchodem mrazu.
9. Způsob podle nároku 7 nebo 8, vyznačený tím, že se přípravek aplikuje v dávce sloučeniny obecného vzorce (I) v rozmezí 5 až 500 g/ha, a v dávce aminoborátu odpovídající 5 až 500 g bóru/ha.