

PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

307 565

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.:

A01N 65/12 (2009.01)
A01N 25/02 (2006.01)
A01N 25/08 (2006.01)
A01P 3/00 (2006.01)

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2010-13**
(22) Přihlášeno: **08.01.2010**
(40) Zveřejněno: **21.09.2011**
(Věstník č. 38/2011)
(47) Uděleno: **31.10.2018**
(24) Oznámení o udělení ve věstníku: **12.12.2018**
(Věstník č. 50/2018)

(56) Relevantní dokumenty:
HUDSON, J. B., et al. Biological activities of terthiophenes and polyynes from the Asteraceae. *Planta medica*, 1993, 59.05: 447-450; ISSN: 0032-0943; ZHOU, Lin. Bioactive agents from *Grindelia tarapacana* Phil.(Asteraceae). 1994..

(73) Majitel patentu:
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v. v. i., Praha 6 -
Ruzyně, CZ

(72) Původce:
Roman Pavela, Tuřany u Slaného, CZ
Martin Žabka, Praha 10 - Hostivař, CZ

(54) Název vynálezu:
Přípravek na ochranu před houbami

(57) Anotace:
Řešení se týká přípravku na ochranu rostlin a/nebo jiného materiálu před patogenními a toxinogenními houbami, který obsahuje koncentrát synergicky působící směsi extraktu z kořenů, plodů a/nebo zelených částí rostlin rodu *Grindelia Willd.*, v množství 0,5 až 99,5 % hmotn. a nosiče na bázi povrchově aktivního činidla a/nebo emulgátoru v množství 0,5 až 99,5 % hmotn.

CZ 307565 B6

Přípravek na ochranu před houbami

Oblast techniky

5

Technické řešení se týká přípravku s fungicidními vlastnostmi na ochranu různého materiálu před patogenními a toxinogenními houbami a jeho použití pro ochranu před houbovými patogeny.

10

Dosavadní stav techniky

Při ochraně rostlin a zemědělských komodit proti původcům houbových chorob se obvykle používají fungicidní přípravky, které mají kurativní účinek. Většina z těchto přípravků je jedovatá, environmentálně nebezpečná a má negativní vliv na necílové organismy. Obvykle jsou založeny na účinku jedné, případně až tří biologicky aktivních látek, což má v praxi za následek vznik rezistentních populací původců houbových chorob.

Přípravky na bázi rostlinných extraktů jsou tvořeny převážně směsí biologicky aktivních látek získaných různým extrakčním způsobem (například extrakce pomocí organických rozpouštědel, superkritická extrakce pomocí oxidu uhličitého, vodní destilací, macerováním ve vodě). Extrakty jsou často použity do komerčně vyráběných přípravků na ochranu rostlin. Většina těchto přípravků se používá jako insekticidní přípravky proti škůdcům nebo jako pomocné přípravky na zvýšení vitality a obranyschopnosti rostlin. Jejich biologická účinnost je založena na bázi účinnosti rostlinných biologicky aktivních látek. Přípravků, které by vykazovaly významnou fungicidní účinnost, je nedostatek.

Tyto přípravky mají oproti syntetickým přípravkům výhodu v tom, že obsahují směs biologicky aktivních látek, která je obvykle v synergickém účinku a zabraňuje tak vzniku mechanismu rezistence u původců houbových chorob. Rezidua se po vlastní aplikaci relativně rychle rozkládají, a jsou proto environmentálně bezpečné.

Současný trend výroby zdravých potravin vede záměrně ke snižování chemizace v zemědělské výrobě. Současně je vyvíjena také velká snaha o snížení celkového zatížení životního prostředí syntetickými pesticidními látkami, což předurčuje extrakty z rostlin jako vhodné alternativy ochrany rostlin proti chorobám a škůdcům. Současný trh však nabízí jen omezené množství přípravků na bázi rostlinných extraktů. Z tohoto důvodu je nutné hledat nové, pokud možno environmentálně bezpečné látky, které by zamezily škodám způsobených na rostlinách a/nebo jiném materiálu, podléhajícímu napadení houbovými organismy.

Celosvětově je velká snaha o získání nových fungicidních nebo pomocných přípravků, které by byly zároveň šetrné k životnímu prostředí a byly i ekonomicky přijatelné.

Podstata vynálezu

45

Výše uvedené problémy řeší přípravek na ochranu před houbami podle technického řešení, jehož podstata spočívá v tom, že obsahuje extrakt z kořenů a/nebo nadzemních částí druhů rostlin z rodu *Grindelia* Willd., česky záplevanka syn. grindelie, dále jen grindelie, v množství 0,5 až 99,5 % hmotn. a alespoň jeden nosič na bázi povrchově aktivního činidla a/nebo emulgátoru v množství 0,5 až 99,5 % hmotn.

50

Přípravek podle technického řešení je charakterizován tím, že jeho vodná emulze, která se připraví rozpuštěním extraktu ve vodě, obsahuje 0,5 až 5 % hmotn. extraktu z grindelie.

S výhodou přípravek podle technického řešení obsahuje hrubý extrakt z rostlin grindelie jako metanolvý, etanolvý, vodný extrakt nebo extrakt ze směsi těchto rozpouštědel.

5 Přípravek podle technického řešení je dále charakterizován tím, že obsahuje pevný nosič, který je s výhodou vybrán ze skupiny zahrnující zejména přírodní a syntetické hlinky křemičitany, křemičitany hořčíku, křemičitany hořečnato–hlinité, hlinité křemičitany, uhličitan vápenatý, síran amonný, syntetické hydratované oxidy křemíku, syntetické křemičitany vápníku nebo hliníku, uhlík, síru, přírodní a syntetické pryskyřice, polyvinylchlorid, styrenové polymery a kopolymery, pevné polychlorofenoly, bitumen, vosky a pevná hnojiva.

10 Dále je přípravek podle technického řešení charakterizován tím, že obsahuje nosič kapalný, který je s výhodou vybrán ze skupiny zahrnující zejména vodu, alkoholy, ketony, estery, aromatické nebo alifatické uhlovodíky, ropné frakce, chlorované uhlovodíky, rostlinné oleje a jejich směsi.

15 Přípravek podle technického řešení je charakterizován tím, že obsahuje alespoň dva nosiče, přičemž alespoň jeden z nich je povrchově aktivní činidlo a/nebo emulgátor. Toto povrchově aktivní činidlo a/nebo emulgátor je vybráno ze skupiny polyoxyethylensorbitanmonooleát, surfaktant, dispergační činidlo nebo zvlhčovač; může být neiontové nebo iontové. Mezi vhodná povrchově aktivní činidla patří sodné nebo vápenaté soli polyakrylových kyselin a
20 ligninsulfonových kyselin; kondenzační produkty mastných kyselin nebo alifatických aminů nebo amidů obsahujících alespoň 12 atomů uhlíku v molekule s etylenoxidem a/nebo propylenoxidem; estery mastných kyselin s glycerolem, sorbitanem, sacharózou nebo pentaerytrem; jejich kondenzáty s etylenoxidem a/nebo propylenoxidem; kondenzační produkty mastných alkoholů nebo alkylfenolů, například p-oktylfenolu nebo p-oktylkresolu, s
25 etylenoxidem a/nebo propylenoxidem; sulfáty nebo sulfonáty těchto kondenzačních produktů; alkalické soli nebo soli alkalických zemin, s výhodou sodné soli, nebo estery sulfonových kyselin obsahující alespoň 10 atomů uhlíku v molekule, například natriumlaurylsulfát, sodné sek. alkylsulfáty, sodné soli sulfonovaného ricinového oleje a natriumalkylarylsulfonáty jako dodecylbenzensulfonát; a polymery etylenoxidu a kopolymery etylenoxidu a propylenoxidu.

30 Přípravek podle technického řešení je také charakterizován tím, že obsahuje jako doprovodné látky sloučeniny mající herbicidní, insekticidní nebo fungicidní vlastnosti.

35 Původci technického řešení bylo úspěšně prokázáno příznivé působení přípravku podle technického řešení pro ochranu rostlin před původci chorob a/nebo jiného materiálu podléhajícího znehodnocování houbami (plesnivění a kontaminaci mykotoxiny) a to jak preventivně, tak kurativně, zejména pak proti *Fusarium oxysporum*, *Fusarium verticillioides*, *Penicillium expansum*, *Penicillium brevicompactum*, *Aspergillus flavus* a *Aspergillus fumigatus*.
40 Ověřování tohoto přípravku bylo prováděno ve Výzkumném ústavu rostlinné výroby, v.v.v.i., Praha, CZ., kdy přípravek byl použit zejména proti houbovým patogenům a původcům chorob rostlin a zemědělských komodit.

Dále bylo původci odzkoušeno, že přípravek podle technického řešení je schopen při hmotnostní koncentraci 0,2 až 5 % inhibovat růst alespoň z 50 % patogenních a toxinogenních druhů hub,
45 způsobujících choroby rostlin a znehodnocování jakéhokoli materiálu, který mohou kolonizovat. Zejména se pak jedná o *Fusarium oxysporum*, *Fusarium graminearum*, *Penicillium expansum*, *Penicillium brevicompactum*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*.

50 Přípravek podle technického řešení se aplikuje výhodně ve formě postřiků na užitkové a okrasné rostliny ve volné přírodě, sklenicích i domácnostech, dále pak na jakýkoliv materiál, podléhající houbovým organismům ve zředění vodou (podle způsobu použití), s výhodou 0,1 až 20 % hmotn. účinné látky v příslušné vodní emulzi.

55 Výhodou přípravku podle technického řešení je jeho nejedovatost, neboť je složen z extraktů z rostlin, které jsou používány v kosmetice a lékařství. Další výhodou přípravku podle technického

řešení je jeho univerzálnost, neboť působí jak preventivně, kdy zvyšuje vitalitu rostlin, tak kurativně proti chorobám. Je schopen zvýšit vitalitu, zlepšit vzhled a obranyschopnost rostlin, při standardní preventivní aplikaci opakované podle potřeby. Jedná se o účinný fungicidní přípravek, který nezatěžuje životní prostředí.

5

Přípravek podle technického řešení je účinný fungicidně, pokud obsahuje 0,5 až 99,5 % hmotn. extraktu z rostlin rodu *Grindelia* Willd., především pak z následujících druhů

druh *Grindelia adenodonta* (Steyermark) Nesom

druh *Grindelia arizonica* Gray

10 druh *Grindelia decumbens* Greene

druh *Grindelia fraxinopratis* Reveal & Beatley

druh *Grindelia grandiflora* Hook.

druh *Grindelia havardii* Steyermark

druh *Grindelia hirsutula* Hook. & Arn.

15 druh *Grindelia howellii* Steyermark

druh *Grindelia integrifolia* DC.

druh *Grindelia laciniata* Rydb.

druh *Grindelia lanceolata* Nutt.

druh *Grindelia microcephala* DC.

20 druh *Grindelia nuda* Wood

druh *Grindelia oolepis* Blake

druh *Grindelia oxylepis* Greene

druh *Grindelia papposa* Nesom & Suh

druh *Grindelia pusilla* (Steyermark) Nesom

25 druh *Grindelia robusta* Nutt.

druh *Grindelia scabra* Greene

druh *Grindelia squarrosa* (Pursh) Dunal

druh *Grindelia subalpina* Greene

30 a alespoň jeden nosič, případně další doprovodné látky. Nic nebrání tomu, aby v přípravku podle technického řešení byly jako doprovodné látky také sloučeniny mající herbicidní, insekticidní nebo i fungicidní vlastnosti. Tím se rozšíří spektrum možností použití tohoto přípravku.

Následující příklady provedení přípravek podle technického řešení pouze dokládají, aniž by ho jakkoliv omezovaly.

35

Příklady uskutečnění vynálezu

40 **Příklad 1**

Fungicidní přípravek

Nadzemní kvetoucí části rostliny *Grindelia robusta* Nutt. byly usušeny a následně rozemlety.

45 Vzniklý homogenní vzorek byl macerován v methanolu (99%) za aktivního třepání v objemovém poměru vzorek : rozpouštědlo = 1 : 10. Po 24 hodinách byl macerát zfiltrován a vakuově zahuštěn (40 °C). Celý proces byl opakován třikrát a odparky byly spojeny v jeden homogenní vzorek. Získaný vzorek byl smíchán s nosiči v poměru 5 dílů vzorku: 4 díly řepkového oleje : 1 díl Polysorbate-80 (polyoxyethylen-20 sorbitan monooleát). Směs byla důkladně

50

homogenizována.

Příklad 2

55 **Fungicidní přípravek**

Nadzemní kvetoucí části rostliny *Grindelia squarrosa* (Pursh) Dunal byly rozemlety a macerovány ve vodě za aktivního třepání v objemovém poměru semena : rozpouštědlo = 1 : 10. Po 24 hodinách byl macerát zfiltrován a vakuově zahuštěn (50 °C). Celý proces byl opakován
 5 trikrát a odparky byly spojeny v jeden homogenní vzorek. Získaný homogenní vzorek byl smíchán v poměru 7 : 3 se 70% etanolem. Směs byla důkladně homogenizována.

Příklad 3

Vliv přípravku podle technického řešení na klíčivost pšenice seté

Testované rostliny: *Triticum aestivum* L. pšenice setá (odrůda Darwin).

Varianty ředění: přípravek podle příkladu 1 byl rozředěn ve vodě a rozmíchán do formy emulze o
 15 koncentraci 1; 2,5 a 5 % hmotn..

Metodika: Semena pšenice byla získána z vlastních zdrojů ze sklizených maloparcelkových pokusů. Mechanicky nepoškozená zrna byla umístěna na plata s ovlhčeným sterilním filtračním papírem. Semena nebyla záměrně povrchově sterilizována, aby se docílilo přirozeného projevu
 20 povrchové mykoflóry při klíčení. Pro každou koncentrační variantu (1; 2,5 a 5 % hmotn.) bylo použito hodnocení celkem 400 zrn a to vše ve 4 opakováních. Semena se umístila na samostatná pokusná plata v cca 2cm rozestupech. Klíčení semen probíhalo při teplotě 21 °C v laboratorních podmínkách. Aplikace byla prováděna formou postřiku za použití ručního rozprašovače a to tak, aby byl postřik aplikován rovnoměrně po celém povrchu plata. Na kontrolní variantu byla použita
 25 sterilní destilovaná voda. Procentuální klíčivost byla vyhodnocena po 72 hodinách.

Výsledky: Po aplikaci došlo k potlačení napadení zrn přirozenou povrchovou mikroflórou a tím ke zlepšení hodnot klíčivosti semen. Průměrné hodnoty a směrodatná odchylka klíčivosti semen pšenice v závislosti na koncentraci jsou uvedeny v části Výkresy v Grafu 1.

Příklad 4

Testování fyto toxických vlastností na rostlinách pšenice seté.

V rámci pokusů s aplikací jsme zhodnotili jako objektivní kritérium případné fyto toxické vlastnosti na mladé rostliny. (Květináč 20 x 20 cm, výsevek 50 semen na plochu květináče, substrát běžný rašelinový).

Metodika: Semena pšenice byla nejprve povrchově sterilizována 1% roztokem Sava, omyta sterilní vodou, usušena a vyseta na sterilní rašelinový substrát. Pro hodnocení byly použity květináče 20 x 20 cm a výsevek 50 semen na plochu květináče. Semena byla po té zahrnuta rašelinou do hloubky 1 cm. Květináče byly umístěny na pěstební stoly ve skleníku. Teplota prostředí se pohybovala v rozmezí 19 až 25 °C. Zálivka byla prováděna formou spodní závlahy
 45 každé dva dny (spodní závlaha byla zvolena, aby se maximálně zamezilo náhodnému smytí přípravku z listů). První aplikace přípravku podle příkladu 1 byla provedena, když výška rostlin dosahovala v průměru 5 cm. Další aplikace na rostliny byla provedena po dalších deseti dnech. Aplikace byla provedena formou postřiku pomocí ruční postřikovačky mimo prostory pěstebních stolů (aby se zamezilo kontaminaci stolů a okolních pokusů). Aplikace byla provedena dle
 50 zahradnické praxe do skanutí listů. Po oschnutí rostlin, cca za 3 až 4 hodiny po aplikaci, byly rostliny umístěny zpět na pěstební stoly. Hodnocení fyto toxicity bylo prováděno 10 dní po aplikaci, a to těsně před druhou experimentální aplikací. Ta byla provedena stejným způsobem. Hodnocení rostlin po druhé aplikaci bylo provedeno opět po deseti dnech. Ve všech případech se použila 5% koncentrace přípravku dle technického řešení (emulze s vodou/koncentrace 5 %
 55 hmotn.). Ošetřovaná varianta byla porovnávána s kontrolní variantou. V případě kontroly byla

pro aplikaci použita samotná voda. Kontrolní i ošetřená varianta byla provedena celkem ve 3 opakováních. K hodnocení fytotoxických vlastností byla použita následující stupnice:

- 1 bez projevu
 - 2 náznaky (nažloutlé okraje, špičky listů)
 - 3 poškození do 30 % plochy listů
 - 4 poškození 30 až 50 % plochy listů
 - 5 poškození více jak 50 % listové plochy
- Výsledky: Fytotoxicita a poškození rostlin v důsledku aplikace nebyla pozorována ani v jednom opakování. Jak první tak opakovaná aplikace přípravku podle technického řešení nevedla k fytotoxickým projevům a rostliny po aplikaci přípravku nebyly v porovnání s kontrolou hodnoceny jako poškozené. Drobné náznaky zasychání špiček listů byly pozorovány spíše u kontrolních, přípravkem neošetřených, rostlin (cca 3 až 4 %). Po aplikaci nebyla pozorována žádná fytotoxicita k zeleným pletivům rostlin.

Příklad 5

- Vliv přípravku na významné patogenní a toxinogenní druhy hub.

Vybrané cílové druhy: *Fusarium oxysporum*, *Fusarium verticillioides*, *Penicillium brevicompactum*, *Penicillium expansum*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*.

- Metodika: Pro hodnocení účinnosti proti vybraným patogenním a toxinogenním houbám byl použit *in-vitro* test na Petriho miskách. Jako živné médium byl zvolen bramboro–dextrózový agar, který vyhovuje všem testovaným houbám. Účinná složka přípravku (rostlinný extrakt) byl důkladně rozmíchán v dávce 0,5; 1; 1,5; 2,5 a 3 mg/ml v živném agaru za teploty nepřesahující 50 °C (aby nedošlo k případnému snížení účinnosti vlivem tepla). Po vychladnutí agaru byly do středu misek umístěny 0,4 cm velké inokulační agarové terčiky, porostlé 7 denní kulturou jednotlivých patogenů. Misky byly umístěny do termostatu s udržovanou teplotou 20 °C. Varianty byly provedeny ve třech opakováních. Hodnocení inhibičního efektu na růst patogenů bylo provedeno po sedmi dnech. Na základě inhibičního vlivu na růst hub a přepočtu na koncentraci byly určeny střední hodnoty minimální inhibiční koncentrace pro jednotlivé patogeny, neboli minimální dávka vedoucí k omezení růstu houbových patogenů minimálně o 50 %.

- Výsledky: hodnoty minimální inhibiční koncentrace zjištěné pro vybrané patogenní a toxinogenní druhy jsou uvedeny v části Výkresy v Grafu 2 jako (MIC 50). Růst vybraných patogenních a toxinogenních hub byl významně inhibován. Při vyšších dávkách byl růst inhibován v některých případech zcela. Test potvrdil slibnou účinnost už při koncentracích v rozmezí 0,7 až 1,76 mg/ml, kdy inhibice růstu překračovala 50 % u všech vybraných druhů hub.

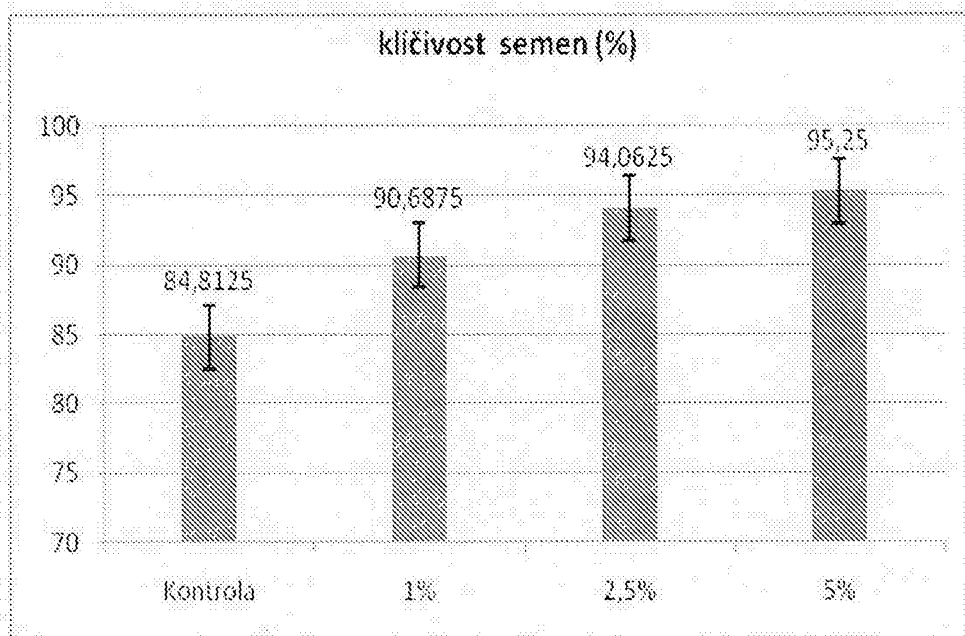
Průmyslová využitelnost

- Přípravek s fungicidním účinkem lze využít v zemědělské i potravinářské praxi, dále pak v domácnostech k ochraně užitkových a okrasných rostlin a při ochraně jakéhokoli materiálu pro potlačení výskytu širokého spektra houbových druhů podílejících se na jeho znehodnocování.

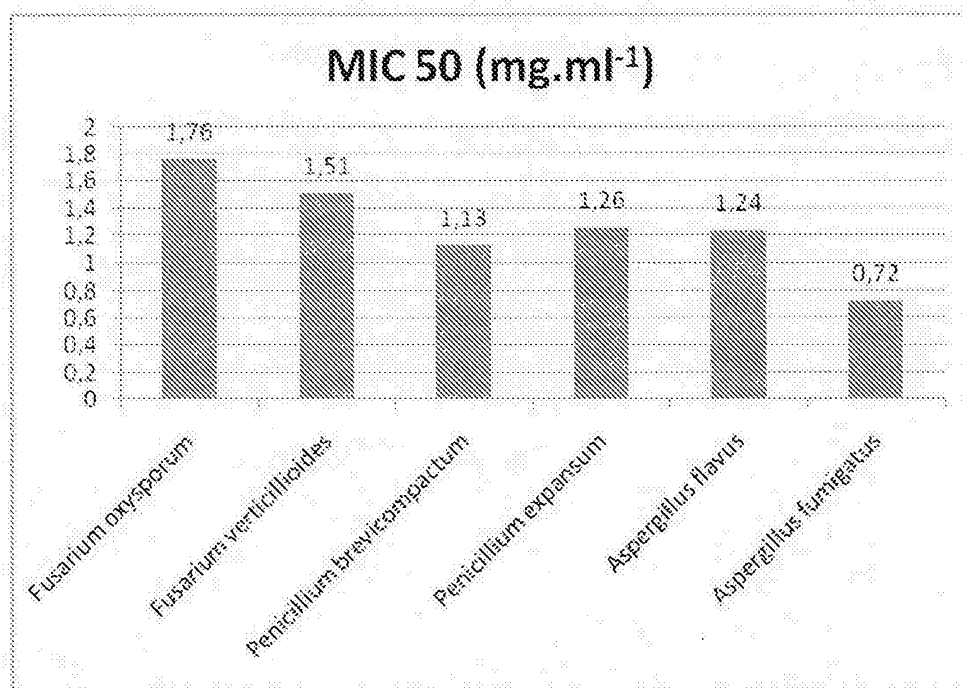
PATENTOVÉ NÁROKY

1. Přípravek na ochranu před houbami, **vyznačující se tím**, že obsahuje extrakt z kořenů a/nebo nadzemních částí druhů rostlin z rodu *Grindelia* Willd., česky záplevanka syn. *grindelia*, dále jen *grindelia*, v množství 0,5 až 99,5 % hmotn., a alespoň jeden nosič na bázi povrchově aktivního činidla a/nebo emulgátoru v množství 0,5 až 99,5 % hmotn.
2. Přípravek podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že jeho vodná emulze, která se připraví rozpouštěním extraktu ve vodě, obsahuje 0,5 až 5 % hmotn. extraktu z *grindelia*.
3. Přípravek podle nároku 1 nebo 2, **vyznačující se tím**, že hrubým extraktem z rostlin *grindelia* je metanolvý, etanolvý, vodný extrakt nebo extrakt ze směsi těchto rozpouštědel.
4. Přípravek podle kteréhokoliv z nároků 1 až 3, **vyznačující se tím**, že nosič v prostředku je pevný.
5. Přípravek podle nároku 4, **vyznačující se tím**, že pevný nosič je vybrán ze skupiny zahrnující přírodní a syntetické hlinky křemičitany, křemičitany hořčíku, křemičitany hořečnato–hlinité, hlinité křemičitany, uhličitany vápenatý, síran amonný, syntetické hydratované oxidy křemíku, syntetické křemičitany vápníku nebo hliníku, uhlík, síru, přírodní a syntetické pryskyřice, polyvinylchlorid, styrenové polymery a kopolymery, pevné polychlorofenoly, bitumen, vosky a pevná hnojiva.
6. Přípravek podle kteréhokoliv z nároků 1 až 3, **vyznačující se tím**, že nosič v prostředku je kapalný.
7. Přípravek podle nároku 6, **vyznačující se tím**, že kapalný nosič je vybrán ze skupiny zahrnující vodu, alkoholy, ketony, étery, aromatické nebo alifatické uhlovodíky, ropné frakce, chlorované uhlovodíky a jejich směsi.
8. Přípravek podle kteréhokoliv z nároků 1 až 7, **vyznačující se tím**, že obsahuje alespoň dva nosiče, přičemž alespoň jeden z nich je povrchově aktivní činidlo a/nebo emulgátor.
9. Přípravek podle nároku 8, **vyznačující se tím**, že povrchově aktivní činidlo je vybráno ze skupiny zahrnující sodné nebo vápenaté soli polyakrylových kyselin a ligninsulfonových kyselin, kondenzační produkty mastných kyselin nebo alifatických aminů nebo amidů obsahujících alespoň 12 atomů uhlíku v molekule s etylenoxidem a/nebo propylenoxidem, estery mastných kyselin s glycerolem, sorbitanem, sacharózou nebo pentaerytrole, jejich kondenzáty s etylenoxidem a/nebo propylenoxidem, kondenzační produkty mastných alkoholů nebo alkylfenolů, s etylenoxidem a/nebo propylenoxidem, sulfáty nebo sulfonáty těchto kondenzačních produktů, alkalické soli nebo soli alkalických zemin, estery sulfonových kyselin obsahující alespoň 10 atomů uhlíku v molekule, sodné sekundární alkylsulfáty, sodné soli sulfonovaného ricinového oleje a natriumalkylarylsulfonáty, polymery etylenoxidu a kopolymery etylenoxidu a propylenoxidu.

1 výkres



Graf 1



Graf 2