

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **06.05.2011**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **14.11.2012**
(Věstník č. 46/2012)

(21) Číslo dokumentu:

2011-268

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.:

A01N 65/08

(2009.01)

(71) Přihlašovatel:

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v. v. i., Praha 6 -
Ruzyně, CZ

(72) Původce:

Pavela Roman Ing., Tuřany u Slaného, CZ
Žabka Martin, Praha 10 - Hostivař, CZ

(74) Zástupce:

Ministerstvo zemědělství ČR, Mgr. Hana Jirkalová,
Těšnov 17, Praha 1, 11705

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Přípravek na ochranu před houbami a jeho
použití**

(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 *Krameria* 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. Řešení se dále týká použití fungicidního přípravku na ochranu rostlin a/nebo jiného materiálu před patogenními a toxinogenními houbami, kdy přípravek obsahuje alespoň 0,1 % hmotn. účinné fungicidní látky.

Přípravek na ochranu před houbami a jeho použití

Oblast techniky

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

Dosavadní stav techniky

Při ochraně rostlin a zemědělských komodit proti houbovým chorobám se obvykle používá přípravků s fungicidní účinností. Většina z těchto přípravků je jedovatá, environmentálně nebezpečná a má negativní vliv na zdraví lidí a necílové organizmy. Obvykle jsou založeny na účinku jedné, případně až tří biologicky aktivních látek, což má v praxi za následek vznik rezistentních populací původců houbových chorob.

Oproti tomu přípravky na bázi rostlinných extraktů jsou tvořeny směsí biologicky aktivních látek získaných různým extrakčním způsobem. Jejich biologická účinnost je založena na bázi účinnosti rostlinných biologicky aktivních látek. 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. Obvykle jsou takovéto přípravky vyrobeny z extraktů léčivých rostlin, které svým charakterem eliminují jak zdravotní, tak environmentální rizika spojená s užitím takovýchto přípravků na ochranu rostlin. Nicméně přípravků, které by vykazovaly významnou fungicidní účinnost, je nedostatek.

Proto 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

Výše uvedené problémy řeší přípravek na ochranu před houbami podle vynálezu, jehož podstata spočívá v tom, že obsahuje extrakt z kořenů a/nebo nadzemních částí druhů rostlin z rodu *Krameria* L., česky Kramerie (dále jen kramérie), 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.

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

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

Přípravek podle vynálezu je 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.

Přípravek podle vynálezu je charakterizován tím, že obsahuje kromě nosiče alespoň jedno 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 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, například p-oktylfenolu nebo p-oktylkresolu, s 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.

Podstatou vynálezu je i použití přípravku podle vynálezu, kdy přípravek obsahuje alespoň 0,1 % hmotn. účinné fungicidní látky pro ochranu rostlin před houbovými patogeny a toxinogeny.

Použití přípravku podle vynálezu je také podstatou vynálezu, kdy přípravek je používán zejména proti houbovým patogenům a původcům chorob rostlin a zemědělských komodit.

Původci vynálezu bylo úspěšně prokázáno příznivé působení přípravku, podle vynálezu, pro ochranu rostlin před původci chorob, zejména pak proti *Fusarium oxysporum*, *Fusarium verticillioides*, *Penicillium expansum*, *Penicillium brevicompactum*, *Aspergillus flavus* a *Aspergillus fumigatus*. Ověřování tohoto přípravku bylo prováděno ve Výzkumném ústavu rostlinné výroby, v.v.i., Praha, CZ.

Dále bylo původci odzkoušeno, že přípravek podle vynálezu je schopen při hmotnostní koncentraci 0,1 až 10 % inhibovat růst alespoň z 50 % patogenních a toxinogenních druhů hub, 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*.

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

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

Přípravek podle vynálezu je účinný fungicidně, pokud obsahuje 0,5 až 99,5 % hmot. extraktu z rostlin rodu *Krameria* Willd., především pak z následujících druhů

***Krameria erecta* Willd. ex Schult.**

***Krameria grayi* Rose & Painter**

***Krameria ixine* L.**

***Krameria lanceolata* Torr.**

***Krameria lappacea* (Dombey) Burdet & B.B.Simpson**

***Krameria ramosissima* (A. Gray) S. Watson**

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

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

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

Fungicidní přípravek

Suché kořeny rostliny *Krameria ramosissima* (A. Gray) S. Watson. byly usušeny a následně rozemlety. 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 (polyoxyethylene-20 sorbitan monooleate). Směs byla důkladně homogenizována.

Příklad 2

Fungicidní přípravek

Nadzemní kvetoucí části rostliny *Krameria erecta* Willd. ex Schult. I 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 třikrát 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 vynálezu na klíčivost pšenice seté

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

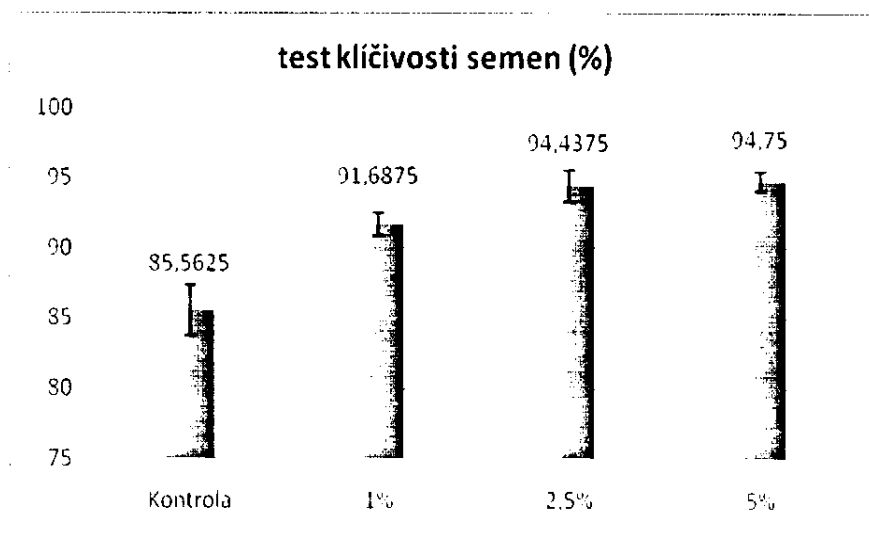
Varianty ředění: přípravek podle příkladu 1 byl rozředěn ve vodě a rozmíchán do formy emulze o koncentraci 1; 2,5 a 5 % hmotn..

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 za účelem přirozeného projevu 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 postřík aplikován rovnoměrně po celém povrchu plata. Na kontrolní variantu

byla použita sterilní destilovaná voda. Procentuální klíčivost byla vyhodnocena po 72 hodinách.

Výsledky: Po aplikaci došlo k potlačení porůstání 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 Tabulce 1.

Tabulka 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% desinfekčním roztokem (Savo), 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 20 až 24 °C. Zálivka byla prováděna formou spodní závlahy 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. Aplikace byla provedena až do sknutí listů. Projevy fytotoxicity byly hodnoceny 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 vynálezu (emulze s vodou/koncentrace 5 % 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 vynálezu nevedla k fytotoxickým projevům a rostliny po aplikaci přípravku byly v porovnání s kontrolou hodnoceny stupněm 1 (bez projevu).

Příklad 5

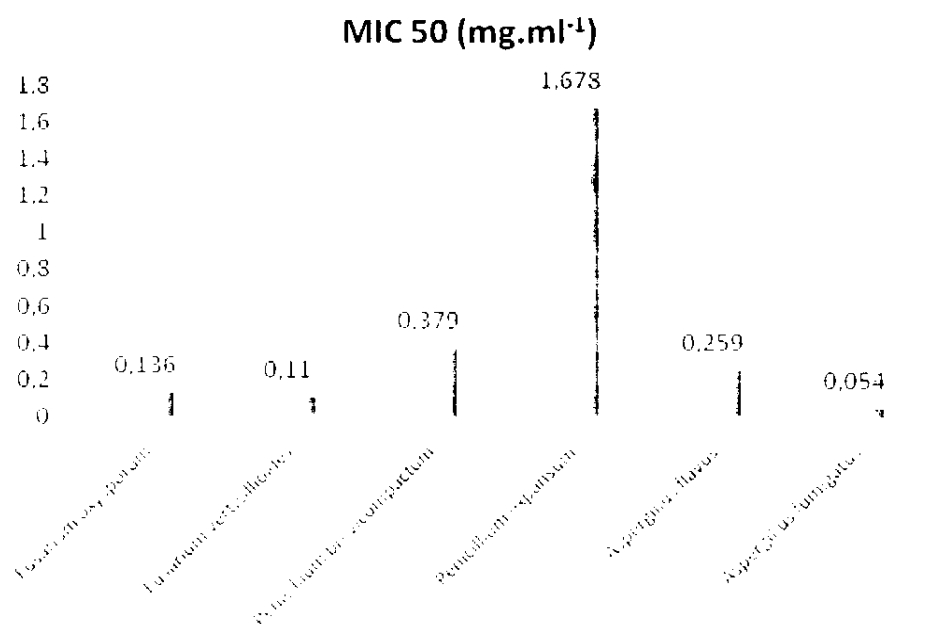
Vliv přípravku na významné patogenní a toxinogenní druhy hub.

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 5 mg/ml živného agaru za teploty nižší než 50 °C (aby nedošlo k případnému snížení účinnosti vlivem tepla). Po vychladnutí agaru byly do středu misek umístěny 0,4 cm velké inokulační agarové terčíky, 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, tedy 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 Tabulce 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 0,05 až 1,68 mg/ml, kdy inhibice růstu překračovala 50 % u všech vybraných druhů hub.

Tabulka 2



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. Je ekologicky neškodný.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Přípravek na ochranu před houbami, **vyznačující se tím**, že obsahuje extrakt z kořenů a/nebo nadzemních částí druhů rostlin z rodu *Krameria* Willd., česky *Kramerie*, dále jen *kramérie*, 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 obsahuje 0,5 až 10 % hmotn. extraktu z *kramérie*.
3. Přípravek podle nároku 1 nebo 2, **vyznačující se tím**, že hrubým extraktem z rostlin *kramérie* je metanolový, etanolový, 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 kapalný.
5. Přípravek podle nároků 1 až 4, **vyznačující se tím**, že kapalný nosič je vybrán ze skupiny zahrnující vodu, alkoholy, ketony, etery, aromatické nebo alifatické uhlovodíky, ropné frakce, chlorované uhlovodíky a jejich směsi.
6. Přípravek podle kteréhokoliv z nároků 1 až 5, **vyznačující se tím**, že obsahuje alespoň dva nosiče, přičemž alespoň jeden z nich je povrchově aktivní činidlo a/nebo emulgátor.
7. Přípravek podle nároku 6, **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.

8. Použití přípravku podle kteréhokoliv z nároků 1 až 7, **vyznačující se tím**, že přípravek obsahuje alespoň 0,1 % hmotn. účinné fungicidní látky pro ochranu rostlin před houbovými patogeny a toxinogeny.

9. Použití podle nároku 9, **vyznačující se tím**, že přípravek je použit zejména proti houbovým patogenům a původcům chorob rostlin a zemědělských komodit.