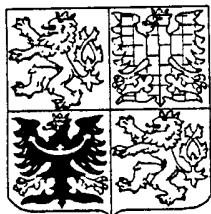


ČESKÁ
REPUBLIKA

(19)



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

ZVEŘEJNĚNÁ PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

(12)

(22) 18.12.92

(32) 19.12.91

(31) 91/3780

(33) CH

(40) 15.09.93

(21) 3747-92

(13) A3

5(51)

A 01 N 43/653

A 01 N 43/647

A 01 N 43/54

A 01 N 25/12

(71) CIBA-GEIGY AG, Basle, CH;

(72) Mittermeier Ludwig dr., Freiburg, DE;
Ruess Wilhelm, Pfeffingen, CH;

(54) Mikrobicidy

(57) Směsi určených triazolových fungicidů (komponenty I) a 4-cyklopropyl-6-methyl-N-fenyl-2-pyrimidinaminu (komponenty II) dosahují synergicky stoupající aktivity proti napadení houbami. Komponenty I a II také lze používat jednotlivě bezprostředně po sobě na rostlinných kulturách.

č.j.	070840
hořlo	18. XII 92
ÚŘAD PRO VYNÁLEZY A OBJEVY	
Příl.	

Mikrobicidy

Oblast techniky

Vynález se týká fungicidních dvoukomponentových prostředků se synergicky zvyšovaným účinkem a způsobu použití těchto prostředků při ochraně rostlin.

Podstata vynálezu

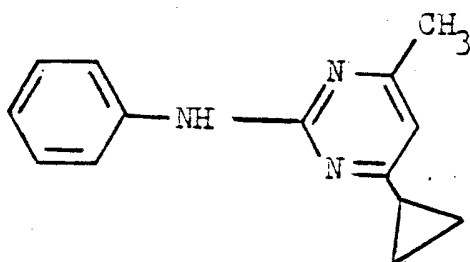
Fungicidní prostředky podle vynálezu sestávají ze směsi dvou komponent I a II.

Komponenta I je ~~enzym~~ ^{inhibitor} ergosterin-biosynthesy triazolové řady nebo některá z jeho solí nebo některý z jeho kovových komplexů, zvolené z

- A) 1-/2-(2,4-Dichlorfenyl)-4-propyl-1,3-dioxolan-2-ylmethyl/-1H-1,2,4-triazolu, obchodní název Propiconazol, (reference: GB-1 522 657);
- B) 1-{2-/2-Chlor-4-(4-chlorfenoxy)-fenyl/-4-methyl-1,3-dioxolan-2-ylmethyl}-1H-1,2,4-triazolu, obchodní název Difenconazol, (reference: GB-2 098 607);
- C) α -/2-(4-Chlorfenyl)ethyl/- α -(1,1-dimethylethyl)-1H-1,2,4-triazol-1-ethanolu, obchodní název Tebuconazol, (reference: EP A 40 345);
- D) 1-(4-Chlorfenoxy)-3,3-dimethyl-1-(1,2,4-triazol-1-yl)-butan-2-olu, obchodní název Triadimenol, (reference: DE-OS 23 24 010);
- E) 1-/3-(2-Chlorfenyl)-2-(4-fluorfenyl)oxiran-2-ylmethyl/-1H-1,2,4-triazolu, kódové označení BAS-480-F, (reference EP A 196 038);
- F) α -(4-Chlorfenyl)- α -(1-cyklopropylethyl)-1H-1,2,4-triazol-1-ethanolu, obchodní název Cyproconazol, (reference US-4 664 696);

- G) 4-(4-Chlorfenyl)-2-fenyl-2-(1,2,4-triazol-1-ylmethyl)-buty-
ronitrilu, navržený obchodní název Fenbuconazol, (reference:
EP-A 251 775);
- H) α -(2-Fluorofenyl)- α -(4-fluorofenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-
ethanolu, obchodní název Flutriafol, (reference: EP-A 157 56
~~A564~~);
- J) α -Butyl- α -(2,4-dichlorfenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-ethanolu;
obchodní název Hexaconazol, (reference: GB 2,119 653); a
- K) 1-{/Bis(4-fluorofenyl)methylsilyl/methyl}-1H-1,2,4-triazolu,
obchodní název Flusilazol, (reference: US-4,510 136).

Komponenta II je 2-anilinopyrimidin vzorce



II

4-cyklopropyl-6-methyl-N-fenyl-2-pyrimidinamin nebo některá z
jeho solí nebo některý z jeho kovových komplexů (reference: EP
A 310 550).

Z kyselin, které se mohou používat k výrobě solí sloučenin
I nebo II, je možné jmenovat:
halogenvodíkové kyseliny jako kyselinu fluorovodíkovou, kyseli-
nu chlorovodíkovou, kyselinu bromovodíkovou nebo kyselinu jodo-
vodíkovou jakož i kyselinu sírovou, kyselinu fosforečnou, kyse-
linu dusičnou a organické kyseliny jako kyselinu octovou, kyse-
linu trifluoroctovou, kyselinu trichloroctovou, kyselinu propio-
novou, kyselinu glykolovou, kyselinu thiokyanovou, kyselinu mléč-
nou, kyselinu jantarovou, kyselinu citronovou, kyselinu benzo-
vou, kyselinu skořicovou, kyselinu oxalovou, kyselinu mravenčí,

kyselinu benzensulfonovou, kyselinu p-toluensulfonovou, kyselinu methansulfonovou, kyselinu salicylovou, kyselinu p-aminosalicylovou, kyselinu 2-fenoxybenzovou, kyselinu 2-acetoxybenzovou nebo kyselinu 1,2-naftalen-disulfonovou.

Název Solé zahrnuje také kovové komplexy obou basických komponent I a II. Tyto komplexy se mohou volitelně týkat jen jedné komponenty nebo také nezávisle obou komponent. Nechají se také vyrobit kovové komplexy, které obě účinné látky I a II spolu spojují v jeden smíchaný komplex.

Kovové komplexy sestávají ze základní organické molekuly a anorganické nebo organické kovové sole, například halogenidů, dusičnanů, síranů, fosforečnanů, acetátů, trifluoracetátů, trichloracetátů, propionátů, vinanů, sulfonátů, salicylátů, benzoátů a.t.d. prvků druhé hlavní skupiny jako vápníku a hořčíku a třetí a čtvrté hlavní skupiny jako hliníku, cínu nebo olova jakož i první až osmé vedlejší skupiny, jako chromu, manganu, železa, kobaltu, niklu, mědi, zinku a tak dále. Výhodné jsou prvky vedlejší skupiny 4. periody. Kovy mohou při tom být v různých ~~jiné~~ ~~nejších~~ mocnostvích. Kovové komplexy mohou vznikat jednojaderné nebo vícejaderné, t.j. mohou obsahovat jednu nebo několik molekulových částí jako ligandy, jako asi při dříve zmíněných směsných komplexech z triazolových komponent I a anilinopyrimidinu II.

Triazolové komponenty I mohou být přítomné ve stereoisomerních formách nebo jako racemáty. Zatím co komponenty IC a IG až IJ mohou tvořit dva stereoisomery, jsou pro ostatní komponenty IA (Propiconazol), IB (Difenoconazol), ID (Triadimenol), IE (BAS 480-F) a IF (Cyproconazol) vždy možné čtyři stereoisomery. Různé stereoisomerní formy jednoho přípravku mohou mít různé fungicidní účinky. U Propiconazolu například jsou výhodné oba cis-isomery, t.j. ony enantiomery, u kterých triazolylmethylová skupina a propylová skupina stojí na stejné straně dioxolanového kruhu. U BAS-480-F je výhodný 2RS,3SR-enantiomer.

V praxi se mohou účinné látky I a II výhodně nasazovat ja-

ko volné báze a ve formě racematů, ke kterým se mohou také přidávat další agrárchemické aktivní substance jako insekticidy, akaricidy, nematocidy, herbicidy, regulátory růstu a hnojiva, zejména však další mikrobicidy.

V posledních letech přišly na trh ve vyšší míře tak zvané omezovače ergosterin-biosynthesy, t.j. přípravky jejichž fungicidní účinek spočívá v tom, že brání biosynthes^e ergosterinu přítomnému v buněčných membránách hub. Fungicidy, které v molekule obsahují 1H-1,2,4-triazolový zbytek, působí zpravidla přitom jako omezovač 14-C demethylace (=DMI). Dlouholeté nasazení přípravků na bázi triazolu však již místy vedlo ke vzniku houbových kmenů s průkazně redukovanou sensitivitou.

Nyní se překvapivě ukázalo, že směsi komponent I s anilino-pyrimidinem II ve svém fungicidním účinku vyvíjejí nejen aditivní účinek, ale značně synergicky zvýšený účinek i u houbových isolátů, které získaly redukovanou sensitivitu na triazolové fungicidy.

Předložený vynález představuje proto zcela polstatné obohacení techniky.

Předmětem vynálezu je vedle dvoukomponentové směsi také způsob potírání hub, který spočívá v ošetření houbami napadeného nebo houbami ohroženého místa v libovolném pořadí nebo současně a) některou z komponent I nebo její (kovovou) solí a b) účinnou látkou vzorce II nebo její solí, přičemž se sole mohou také volit tak, že se obě účinné látky váží na jeden kyselinový zbytek, nebo v případě kovového komplexu, na jeden centrální kovový kation.

Příznivé směsné poměry obou účinných látek jsou I:II = 10:1 až 1:20, výhodně I:II = 6:1 až 1:6. V mnoha případech jsou výhodné směsi, u kterých směsný poměr aktivních substancí I:II je 1:1 až 1:6, například 2:5, 1:3, 1:4 nebo 1:6.

Směsi účinných látek I+II podle vynálezu mají velmi výhodné kurativní, preventivní a systemické fungicidní vlastnosti k ochraně kulturních rostlin. Předloženými směsemi účinných látek se mohou u rostlin nebo částí rostlin (plodů, květů, lupení, lo-

dých, hlíz, kořenů) různých užitkových kultur vznikající mikroorganismy tlumit nebo zničit, přičemž i později přirůstající části rostlin zůstávají před mikroorganismy tohoto druhu chráněné. To se také týká zejména mikroorganismů, které proti fungicidům triazolové třídy vyvinuly redukovanou sensitivitu.

Směsi účinných látek jsou účinné vůči fytopathogenním houbám náležejícím k následujícím třídám: Ascomycetám (například *Venturia*, *Podosphaera*, *Erysiphe*, *Monilinia*, *Uncinula*); Basidiomycetám (například rodu *Hemileia*, *Rhizoctonia*, *Puccinia*); Fungi imperfecti (například *Botrytis*, *Helminthosporium*, ^{*Rhynchosporium*} *Fusarium*, *Septoria*, *Cercospora*, *Alternaria* a zejména *Pseudocercospora herpotrichoides*). Směsi účinných látek působí systemicky. Mohou se také používat jako mořidla k ošetřování osiva (plodů, hlíz, zrn) a rostlinných sazenic k ochraně před houbovými infekcemi jakož i před fytopathogenními houbami nacházejícími se v půdě. Směsi účinných látek podle vynálezu se vyznačují zvláště dobrou snášenlivostí k rostlinám a svou vlivností k okolí.

Jako kultury pro sem patříící indikační oblasti platí v rámci tohoto vynálezu například následující druhy rostlin: obilí: pšenice, ječmen, žito, oves, rýže, čirok a příbuzné); řepa (cukrová řepa a krmná řepa); jádrové ovoce, peckové ovoce, bobulové ovoce: (jablka, hrušky, švestky, broskve, mandle, třešně, jahody, maliny a ostružiny); luštěniny: (boby, čočka, hrách, soja); olejové kultury: (řepka, hořčice, mák, olivy, slunečnice, kokos, ricinus, kakao, podzemnice olejná); okurkové rostliny: (dýně, okurky, melouny); vláknité rostliny: (bavlna, len, konopí, juta); citrusové plody: (pomeranče, citrony, grapefruity, mandarinky); druhy zeleniny: (špenát, hlávkový salát, chřest, kapusta, mrkev, cibule, tomáty, brambory, paprika); vavřínové rostliny: (avokádo, cinnamonum, kafr) nebo rostliny jako kukuřice, tabák, ořechy, káva, cukrová třtina, čaj, viná réva, chmel, banánovník a rostliny přírodního kaučuku jakož i ozdobné rostliny (květiny, křoviny, listnaté stromy a jehličnaté stromy jako koniféry). Tento výpočet však nepředstavuje omezení.

Směsi účinných látek I a II se obvykle používají ve formě složenin. Účinná látka I a účinná látka vzorce II se mohou dávat současně, mohou se však také dávat jedna po druhé týž den na ošetřovanou plochu nebo na rostliny, spolu s popřípadě dalšími, v přípravkové technice obvyklými nosiči, tensidy nebo jinými přísadami, které jsou potřebné pro aplikaci.

Vhodné nosiče a přísady mohou být pevné nebo kapalné a odpovídají látkám sloužícím účelně v přípravkové technice, jako například přírodní nebo regenerované minerální látky, rozpouštědla, dispergační prostředky, smáčecí prostředky, prostředky zvyšující přilnavost, zahušťovací prostředky, pojídla nebo hnojiva.

Výhodný způsob nanášení směsi účinných látek, která obsahuje alespoň jednu z těchto účinných látek I a II, je nanášení na nadzemní části rostlin, především na listoví (listová aplikace). Počet aplikací a použité množství se řídí podle biologických a klimatických životních podmínek pro původce nákazy. Účinné látky se však také mohou do rostliny dostat přes půdu kořeny (systemický účinek) tím, že se stanoviště rostliny pokropí kapalným přípravkem nebo se substance do půdy vnesou v pevné formě, například ve formě granulátu (půdní aplikace). Sloučeniny I a II se také mohou nanášet na zrna semen (povlékání), tím, že se zrna buď postupně napojí v kapalném přípravku účinné látky, nebo se posypou kombinovaným vlhkým nebo suchým přípravkem. Mimo to jsou ve zvláštních případech u rostlin možné další druhy aplikace, například ošetření pupenů nebo zárodků plodů.

Sloučeniny kombinace se nasazují při tom v nezměněné formě nebo výhodně spolu s pomocnými prostředky obvyklými v přípravkové technice a zpracovávají se proto například na emulsní koncentráty, roztíratelné pasty, přímo stříkatelné nebo zředitelné roztoky, zředitelné emulze, postřikové prášky, rozpustné prášky, popraše, granuláty, kapslování v například polymerních látkách. Postupy při použití jako postřikování, rozprašování, poprašování, rozptylování, potírání nebo lití se volí stejně ja-

ko druh prostředku podle požadovaných cílů a podle daných poměrů. Příznivé množství směsi účinných látek jsou obecně kolem 50 g až 2 kg/ha, zejména 100 g až 1000 g/ha, zvláště výhodně 250 g až 850 g/ha aktivní substance.

Přípravky se vyrábějí známým způsobem, například důkladným smícháním a/nebo rozemletím účinných látek s nastavovací, jako například s rozpouštědly, pevnými nosnými látkami a popřípadě s povrchově aktivními látkami (tensidy).

Jako rozpouštědla mohou přicházet v úvahu: aromatické uhlovodíky, zejména frakce C_8 až C_{12} , jako například xylenové směsi, nebo substituované naftaleny, estery kyseliny ftalové jako dibutylftalát nebo dioktylftalát, alifatické uhlovodíky jako cyklohexan nebo parafiny, alkoholy a glykoly jakož i jejich ethery a estery, jako ethanol, ethylenglykol, ethylenglykolmonomethylether nebo ethylenglykolmonoethylether, ketony jako cyklohexanon, silně polární rozpouštědla jako N-methyl-2-pyrrolidon, dimethylsulfoxid nebo dimethylformamid, jakož i popřípadě epoxidované rostlinné oleje jako epoxidovaný olej z kokosových ořechů nebo sojový olej; nebo voda.

Jako pevné nosné látky, například pro popraše a dispergovatelné prášky, se zpravidla používají přírodní kamenné moučky, jako kalcit, talek, kaolin, montmorillonit nebo attapulgit. Ke zlepšení fyzikálních vlastností se také mohou přidávat vysoce disperšní kyselina křemičitá nebo vysoce disperšní nasáklivé polymery. Jako zrněné, adsorpční nosiče granulátů přicházejí v úvahu porézní typy jako například perza, zlomky cihel, sepiolit nebo bentonit, jako nesorpční nosné materiály například kalcit nebo písek. Mimo to se může používat velký počet předgranulovaných materiálů anorganického nebo organického původu jako zejména dolomit nebo rozmanělněné zbytky rostlin.

Jako povrchověaktivní sloučeniny přicházejí v úvahu vždy podle druhu účinných látek I a II neionogenní, kationaktivní a/nebo anionaktivní tensidy s dobrými emulgačními, dispergačními a smáčecími vlastnostmi.

Ve formulační technice používané tensidy jsou mimo jiné uvedené v následujících publikacích:

- "Mc Cutcheon's Detergents and Emulsifiers Annual" MC Publishing Corp., Glen Rock, New Jersey, 1988.
- M. and J. Ash, "Encyclopedia of Surfactants", Vol. I-III, Chemical Publishing Co., New York, 1980-1981.

Zvlášť výhodné, aplikaci podporující přídatné látky jsou dále přírodní nebo syntetické fosfolipidy z řady kefalínů a lecitínů, jako například fosfatidylethanolamin, fosfatidylserin, fosfatidylglycerin, lysolecitin.

Agrochemické přípravky obsahují zpravidla 0,1 až 99 %, zejména 0,1 až 95 % účinné látky I, 99,9 % až 1 %, zejména 99,9 až 5 % pevné nebo kapalně přídatné látky a 0 až 25 %, zejména 0,1 až 25 % tensidu.

Zatím co obchodní zboží jsou spíše koncentrované prostředky, používá spotřebitel zpravidla prostředky zředěné.

(Agro)chemické prostředky tohoto druhu jsou součástí předloženého vynálezu.

- Následující příklady slouží k ilustraci vynálezu, přičemž "účinná látka" znamená směs sloučeniny I a sloučeniny II v určeném směsném poměru.

Potravný potravný ^{Popraš} prášek	a)	b)	c)
účinná látka /I:II = 2:3(a), 1:1(b), 1:6(c)/	25 %	50 %	75 %
Na-ligninsulfonát	5 %	5 %	-
Na-laurylsulfát	3 %	-	5 %
Na-diisobutyl-naftalensulfonát	-	6 %	10 %
oktylfenolpolyethylenglykolether (7-8 mol ethylenoxid)	-	2 %	-
vysocedispersní kyselina křemičitá	5 %	10 %	10 %
kaolin	62 %	27 %	-

Účinná látka se s přídatnými látkami dobře smíchá a ve vhodném mlýně se dobře rozemele. Získá se ~~potravný~~ ^{popraš} prášek, který se vodou zředí na suspensi požadované koncentrace.

Emulsní koncentrát	
účinná látka (I:II = 2:5)	10 %
oktylfenolpolyethylenglykolether (4-5 mol ethylenoxid)	3 %
Ca-dodecylbenzensulfonát	3 %
polyglykolether ricinového oleje (35 mol ethylenoxid)	4 %
cyklohexanon	30 %
xylenová směs	50 %

Z tohoto koncentrátu se zředěním vodou mohou připravit emulze každého požadovaného zředění, které je možno nasadit při ochraně rostlin.

Popraše	a)	b)	c)
účinná látka /I:II=1:4(a); 1:5(b) a 1:1(c)/	5 %	6 %	4 %
talek	95 %	-	-
kaolin	-	94 %	-
kamenná moučka	-	-	96 %

Získá se popraš připravená k použití tím, že se účinná látka smíchá s nosičem a ve vhodném mlýně se rozemele. Tyto prášky je možno používat k suchému moření osiva.

Extrudovaný granulát	
účinná látka (I:II = 2:3)	15 %
Na-ligninsulfonát	2 %
karboxymethylcelulosa	1 %
kaolin	82 %

Účinná látka se smíchá s přídatnými látkami, rozemele se a ovlhčí se vodou. Tato směs se extruduje a pak se suší v proudu vzduchu.

Obalovaný granulát	
účinná látka (I:II = 3:5)	8 %

polyethylenglykol (MG 200)	3 %
kaolin	89 %
(MG = molekulová hmotnost)	

Jemně umletá účinná látka se v míchačce stejnoměrně nanese na kaolin ovlhčený polyethylenglykolem. Tímto způsobem se získají bezprašné obalované granuláty.

Suspensní koncentrát	
účinná látka (I:II = 3:7)	40 %
propylenglykol	10 %
nonylfenolpolyethylenglykoether	
(15 mol Et-oxid)	6 %
Na-ligninsulfonát	10 %
karboxymethylcelulosa	1 %
silikonový olej	
(ve formě 75% vodné emulse)	1 %
voda	32 %

Jemně rozemletá účinná látka se dobře smíchá s přídatnými látkami. Získá se tak suspensní koncentrát, ze kterého se mohou zředěním vodou připravit suspence každého požadovaného zředění. Těmito zředěninami se mohou žijící rostliny jakož i ~~plamenáč~~ ^{sazenice} ošetřit postřikem, politím nebo ponořením a chránit před napadenutím mikroorganismy.

Biologické příklady

Synergický efekt u fungicidů vzniká vždy ~~pat~~, když fungicidní účinek kombinace účinných látek je větší než součet účinků jednotlivě aplikovaných účinných látek. Očekávaný účinek E pro danou kombinaci účinných látek, například dvou fungicidů, je dán tak zvaným COLBY-ho vzorcem a může se vypočítat následovně (COLBY, LR "Calculating synergistic and antagonistic responses of herbicide combinations", Weeds 15, str. 20-22, 1967) (LINPEL and al., 1962 "Weeds control by certain combinations", Proc. NEWCL, sv. 16, pp. 48-53):

(g a.s./ha = gram aktivní substance na hektar)

X = % účinku fungicidem I při p g as/ha

Y = % účinku fungicidem II při q g as/ha

E = očekávaný účinek fungicidů I+II při p+q g as/ha použitého množství (aditivní účinek),

potom je podle Colbyho: $E = X + Y - \frac{X \cdot Y}{100}$

Když je skutečně pozorovaný účinek (O) větší než očekávaný, tak je kombinace ve svém účinku nadaditivní, t.j. je efekt synergický.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1: Účinek na "padlí" na ozimé pšenici

Metoda: V květináčích průměru 16 cm se ve skleníku vypěstuje cca 20 rostlin ozimé pšenice druhu "Bernina" při 20 °C a 60 % relativní vlhkosti vzduchu během 12 hodin přes den popřípadě při 16 °C a 80 % relativní vlhkosti vzduchu během noci. Na začátku odnožování (EC 21) se rostliny inokulují isolátem *Erysiphe graminis* f.sp. tritici, co vykáže redukovanou sensitivitu proti DMI-fungicidům.

Tři dny po inokulaci se aplikuje jednotlivá účinná látka popřípadě fungicidní směs jako vodná suspence postříkem za polních podmínek s množstvím vody 500 l/ha. Čtyři dny, popřípadě 11 dnů po aplikaci se určí změna napadení na listové ploše přítomné při inokulaci (vyhodnocení primárního napadení). Každý z 15 pokusů se 3 krát opakuje.

Nasazují se množství uvedená v tabulkách 1a a 2a.

Se směsami sestávajícími z IA (= Propiconazol) a II se dosáhne následujících výsledků:

Tabulka 1a:

Vyhodnocení 7 dnů po začátku pokusu (účinná látka IA = Propiconazol)

Pokus číslo	g Aktivní substance/ha		Napadení houbami v %	E % účinku vypočteno (COLBY)	O % účinku nalezeno
	účinná lát- ka I	účinná lát- ka II			
1 (kon- trole)	-	-	38	-	-
2	25	-	35	-	8
3	50	-	24	-	37
4	125	-	3	-	92
5	-	25	30	-	21
6	-	50	15	-	61
7	-	125	10	-	74
8	-	750	7	-	82
9	25	25	16	27	58
10	25	50	11	54	71
11	25	125	4	76	89
12	50	25	10	50	74
13	50	50	4	75	90
14	50	125	5	84	87
15	125	25	2	94	95

Tabulka 1b:

/yhodnocení 14 dnů po začátku pokusu (účinná látka IA =

Propiconazol

Pokus číslo	g Aktivní substance/na		Napadení houbami v %	E % účinku vypočteno (COLBY)	O % účinku nalezeno
	účinná látka I	účinná látka II			
1 (kon- trole)	-	-	83	-	
2	25	-	85	-	2
3	50	-	68	-	18
4	125	-	14	-	83
5	-	25	78	-	6
6	-	50	80	-	4
7	-	125	55	-	34
8	-	750	3	-	96
9	25	25	73	5	12
10	25	50	78	1	6
11	25	125	33	33	60
12	50	25	53	23	36
13	50	50	37	21	55
14	50	125	40	46	52
15	125	25	7	84	92

Jak je zřejmé, nastává jak po 7 tak také po 14 dnech při zcela různých směsných poměrech u pokusů č. 9 až č. 15 synergicky stoupající fungicidní účinek.

Příklad 2: Účinek "Septoria nodorum" (pšenice)

Metoda: Septoria nodorum se 2 týdny pěstuje na Petriho miskách s agarovou živnou půdou sestávající z 1 g sušeného droždí, 20 g

pšeničné mouky a 20 g agaru pro litr vody. K tvorbě spor se houba dá do sklenice naplněné pšeničným osivem a při 8 °C se 4 týdny inkubuje (simulace 16 hodin-den). Vzniklé spory se pak vypláchnou vodou a po filtraci se upraví na koncentraci 10000 spor na mililitr (koncentrace v mikrotitro-destičkách).

Pro měření aktivity fungicidů a směsí fungicidů se použijí mikrotitrové destičky s 96 rourkami. Každá trubička se Hamiltonovou pipetou naplní 180 μ l živného media PDB ("Potato Dextrose Broth"), které obsahuje 10000 spor/ml a 200 ppm streptomycin sulfátu k zabránění infekce bakteriemi. Potom se každá trubička doplní 20 μ l příslušně zředěného roztoku fungicidu. Mikrotitrové destičky se pak na 7 dnů v temnu při 20 °C inkubují. Každá koncentrace se 10 krát opakuje. Vyhodnocení růstu hub každého vzorku se provádí fotometricky při 595 nm, načež se vypočítá aktivita každého vzorku fungicidu podle COLBY-ho.

Tabulka 2a: (účinná látka IF = Cyproconazol)

Pokus číslo	mg Aktivní substance/l		Poměr I:II	E % účinku vypočteno (COLBY)	O % účinku nalezeno
	účinná látka IF	účinná látka II			
1	0,02	-		-	0
2	0,05	-		-	0
3	0,1	-		-	0
4	0,2	-		-	0
5	0,3	-		-	10
6	-	0,01		-	19
7	-	0,02		-	26
8	-	0,1		-	38
9	-	0,3		-	45

Tabulka 2a - pokračování

Pokus číslo	mg Aktivní substance/l		Poměr I:II	E	O
	účinná látka I	účinná látka II		% účinku vypočteno (COLBY)	% účinku nalezeno
10	0,02	0,01	2:1	19	22
11	0,1	0,01	10:1	19	26
12	0,3	0,01	30:1	27,1	31
13	0,05	0,02	5:2	26	29
14	0,1	0,02	5:1	26	33
15	0,2	0,02	10:1	26	32
16	0,1	0,1	1:1	38	43
17	0,2	0,1	2:1	38	46
18	0,3	0,1	3:1	44,2	47
19	0,05	0,3	1:6	45	52
20	0,1	0,3	1:3	45	52
21	0,3	0,3	1:1	50,5	60

Tabulka 2b: (účinná látka IJ = Hexaconazol)

Pokus číslo	mg Aktivní substance/l		Poměr I:II	E	O
	účinná látka IJ	účinná látka II		% účinku vypočteno (COLBY)	% účinku nalezeno
1	0,01	-			0
2	0,02	-		-	1
3	0,03	-		-	8
4	0,05	-		-	16
5	0,1	-		-	38
6	0,5	-		-	69

Tabulka 2b: - pokračování

Pokus číslo	mg Aktivní substance/l		Poměr I:II	% účinku vypočteno (COLBY)	% účinku nalezeno
	účinná látka IJ	účinná látka II			
7		0,01		-	8
8		0,02		-	34
9		0,03		-	41
10		0,05		-	51
11		0,1		-	63
12		0,3		-	73
13		0,5		-	78
14	0,01	0,01	1:1	8	52
15	0,03	0,01	3:1	15,36	44
16	0,05	0,01	5:1	22,72	56
17	0,1	0,01	10:1	42,96	60
18	0,5	0,01	50:1	89,88	93
19	0,02	0,02	1:1	34,66	71
20	0,01	0,03	1:3	41	73
21	0,01	0,05	1:5	51	80
22	0,01	0,1	1:10	63	82
23	0,02	0,1	1:5	63,37	85
24	0,03	0,3	1:10	75,16	89
25	0,5	0,5	1:1	97,58	100

Jak vyplývá z tabulek 2a a 2b, může se účinek aktivní substance II značně zvýšit přidávkou stop triazolu, které samy nevyvíjejí žádný účinek.

Příklad 3: Účinek proti *Drechslera teres*

Metoda: Kmen *Drechslera teres* se 3 týdny pěstuje při 17-21 °C na agaru V8 (uněle 16 hodin-den). Spory se propláchnou sterilní

vodou a po filtraci se upraví na koncentraci 10000 spor/ml. Použijí se mikrotitrové misky s 96 trubičkami. Každá trubička se naplní 180 μ l živného média SSB ("Sabonrand Maltose Broth") obsahujícího 10000 spor/ml a 200 ppm streptomycin-sulfátu. Plnění se provede Hamiltonovou pipetou. K tomu se dá vždy 20 μ l zkoušeného roztoku fungicidu. Destičky se inkubují 5 dnů při 20 °C v temnu.

Po této periodě se fotometricky při 595 nm měří absorpce každé trubičky a z toho se vyvodí aktivita. Každá koncentrace se zkouší v 10 opakováních.

Tabulka 3a: (účinná látka IC = Tebuconazol)

Pokus číslo	ng Aktivní substance/l		Poměr I:II	E % účinku vypočteno (COLBY)	O % účinku nalezeno
	účinná látka IC	účinná látka II			
1	0,01	-			0
2	0,02	-			0
3	0,05	-			0
4	-	0,007			6
5	-	0,01			28
6	-	0,02			54
7	-	0,03			49
8	0,05	0,007	10:7	11	16
9	0,05	0,01	5:1	44	47
10	0,01	0,02	1:2	32	48
11	0,02	0,02	1:1	31	70
12	0,05	0,02	5:2	31	36
13	0,02	0,03	2:3	53	77
14	0,05	0,03	5:3	53	71

Tabulka 3b: (účinná látka IF = Cyproconazol)

Pokus číslo	mg Aktivní substance/l		Poměr I:II	E	O
	účinná látka IF	účinná látka II		% účinku vypočteno (COLBY)	% účinku nalezeno
1	0,005	-		-	0
2	0,01	-		-	0
3	0,02	-		-	0
4	-	0,03		-	49
5	0,005	0,03	1:6	49	57
6	0,01	0,03	1:3	49	57
7	0,02	0,03	2:3	49	64

Příklad 4: Účinek proti Alternaria solani

Metoda: Kmen Alternaria se po dobu jednoho týdne v temnu kultivuje na 20% agaru V8 při 22 °C.

Ke zkoušce fungicidní aktivity se do agaru V8 zapracují odstupňované koncentrace účinné látky a na povrchu se v Petriho miskách inokuluje A. solani. Každá koncentrace se opakuje čtyřikrát. Po 7 dnech se stanoví radialní vzrůst houby popřípadě její potlačení.

Tabulka 4a: (účinná látka IJ = Hexaconazol)

Pokus číslo	mg Aktivní substance/l		Poměr I:II	E	O
	účinná látka IJ	účinná látka II		% účinku vypočteno (COLBY)	% účinku nalezeno
1	0,005	-			0

Tabulka 4a: - pokračování

Pokus číslo	mg Aktivní substance/l		Poměr I:II	E	O
	účinné látky IJ	účinné látky II		% účinku vypočteno (COLBY)	% účinku nalezeno
2	0,01	-			0
3	0,02	-			1,3
4	-	0,001			0
5	-	0,002			0
6	-	0,1			73,8
7	-	0,5			76,3
8	-	1,0			75,0
9	0,01	0,001	10:1	0	1,4
10	0,02	0,001	20:1	1,3	12,5
11	0,02	0,002	10:1	1,3	4,7
12	0,005	0,1	1:20	73,8	80
13	0,02	0,5	1:25	76,6	85
14	0,02	1,0	1:50	75,3	93

Stejných značně stoupajících účinků se dosáhlo také s ostatními triazolovými deriváty ve směsi s 4-cyklopropyl-6-methyl-N-fenyl-2-pyrimidinaminem.

Výhodné směsné poměry (ve hmotnostních množstvích) jsou v těchto případech:

IB:II = 3:1 až 1:8

IG:II = 3:1 až 1:12

IC:II = 2:1 až 1:6

IH:II = 3:1 až 1:8

ID:II = 5:1 až 1:5

IJ:II = 5:1 až 1:10

IE:II = 2:1 až 1:8

IK:II = 2:1 až 1:8

IF:II = 5:1 až 1:10

Těchto značných zvýšení účinku se dosáhne nejen u druhů padlí, ale i u nemocí rzí a strupovitých nemocí, lámavosti obilnin, septoriosy (například Septoria nebo hnědé skvrnitosti), plísně šedé a jiných patogenů.

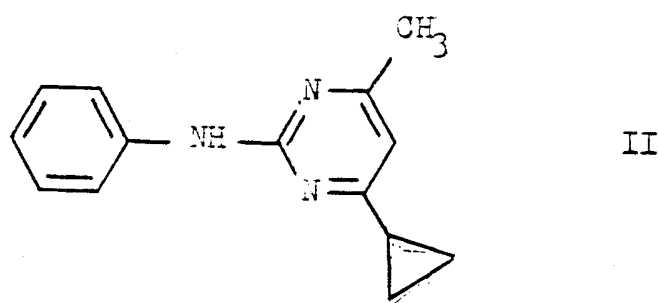
PRŮ VÝVĚRY A OBJEVY	ÚŘAD PRŮVÝVĚRY A OBJEVY	18. XII. 92	070840	21.
------------------------------	----------------------------------	-------------	--------	-----

1. Fungicidní dvoukomponentový prostředek na bázi ~~enzymu~~ ^{inhibitoru} ergosterin-biosynthesy triazolové řady jako komponenty I a derivátu 2-anilinopyrimidinu jako komponenty II, vyznačený tím, že komponenta I je volena z

- A) 1-/2-(2,4-Dichlorfenyl)-4-propyl-1,3-dioxolan-2-ylmethyl/-1H-1,2,4-triazolu;
- B) 1-{2-/2-Chlor-4-(4-chlorfenoxy)-fenyl/-4-methyl-1,3-dioxolan-2-ylmethyl}-1H-1,2,4-triazolu;
- C) α -/2-(4-Chlorfenyl)ethyl/- α -(1,1-dimethylethyl)-1H-1,2,4-triazol-1-ethanolu;
- D) 1-(4-Chlor fenoxi)-3,3-dimethyl-1-(1,2,4-triazol-1-yl)-butan-2-olu;
- E) 1-/3-(2-Chlorfenyl)-2-(4-fluorfenyl)oxiran-2-ylmethyl/-1,2,4-triazolu;
- F) α -(4-Chlorfenyl)- α -(1-cyklopropylethyl)-1H-1,2,4-triazol-1-ethanolu;
- G) 4-(4-Chlorfenyl)-2-fenyl-2-(1,2,4-triazol-1-ylmethyl)-butyronitrilu;
- H) α -(2-Fluorofenyl)- α -(4-fluorofenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-ethanolu;
- J) α -Butyl- α -(2,4-dichlorfenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-ethanolu;
- K) 1-{/Bis(4-fluorofenyl)methylsilyl/methyl}-1H-1,2,4-triazolu;

nebo některé z jejich solí nebo kovových komplexů,

a že komponenta II je 4-cyklopropyl-6-methyl-N-fenyl-2-pyrimidinamin vzorce



nebo některá z jeho solí nebo kovových komplexů.

2. Prostředek podle nároku 1, vyznačený tím, že hmotnostní poměr I:II je 10:1 až 1:20.
3. Prostředek podle nároku 2, vyznačený tím, že hmotnostní poměr I:II je 6:1 až 1:6.
4. Prostředek podle nároku 3, vyznačený tím, že hmotnostní poměr I:II je 1:1 až 1:6.
5. Prostředek podle nároku 1, přičemž se používá jako komponenta I Propiconazol, sloučenina IA.
6. Prostředek podle nároku 1, přičemž se používá jako komponenta I Tebuconazol, sloučenina IC.
7. Prostředek podle nároku I, přičemž se jako komponenta I používá Cyproconazol, sloučenina IF.
8. Prostředek podle nároku 1, přičemž se jako komponenta I používá Hexaconazol, sloučenina IJ.
9. Použití kombinace účinných látek podle nároku 1 k ničení hub nebo k zamezení napadení houbami.
10. Způsob ničení hub, vyznačený tím, že se místo napadené nebo ohrožené houbami v libovolném pořadí nebo současně ošetří komponentou I a komponentou II podle nároku 1.

11. Způsob podle nároku 10, přičemž se nasadí komponenta IA, Propiconazol.