



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

199 906

(11) (B1)

(61)
(23) Výstavní priorita
(22) Přihlášeno 29 11 76
(21) PV 7703-76

(51) Int. Cl.³ A 01 N 63/00

(40) Zveřejněno 30 11 79
(45) Vydáno 01 04 83

(75)
Autor vynálezu VESELÝ DÁŠA ing.CSc., PRAHA

(54) Prostředek stimulující při aplikaci na semena řepy cukrové růst vzházejících rostlin a chránící je proti spále

1

Předmětem vynálezu je prostředek stimulující při aplikaci na semena řepy cukrové růst vzházejících rostlin a chránící tyto rostliny proti napadení mikromycetami, způsobujícími spálu.

Je známo, že vzházející rostliny řepy cukrové jsou často napadány houbami, které žijí na semenech i v půdě a způsobují spálu, která může zničit značný počet rostlin. Tato choroba napadá převážně právě vyklíčené rostliny, ještě než prorazí povrchem půdy. Choroba zpravidla doznívá ve fázi vytvoření prvního páru pravých listů. Škody způsobené spálou se neprojevují tak závažně při dřívějším způsobu výsevu, kdy se vysévala přírodní řepná klubička ve výsevní dávce 25 až 30 kg na hektar. Při tomto způsobu vzešlo na ploše 1 ha kolem 1 500 000 rostlin. Jednocení, které po vzejití rostlin následovalo, bylo zaměřeno kromě redukce nadměrného početního stavu na odstraňování nemocných a slabých rostlin. Při současné technologii pěstování řepy cukrové, při níž se používá nízkých výsevných dávek osiva obrušovaného na geneticky jednoklíčkového, vzhází na 1 ha kolem 200 000 rostlin a méně a nejednotí se, působí řepná spála značné ztráty rostlin a tím i výnosů. Řepná spála je také faktorem, který limituje rozšiřování nových technologií pěstování řepy cukrové, zejména bez ruční práce a setí na na konečnou vzdálenost. Jediným až dosud používaným způsobem ochrany vzházejících rostlin proti spále je moření osiva.

Chemické moření osiva se používá ve všech státech světa, kde se pěstuje řepa cukrová.

199 906

Nejrozšířenější přípravky k moření semene obsahují organické sloučeniny rtuti a kromě nich i organické sloučeniny síry, především tetramethylthiuramdisulfid. Oba druhy přípravků, přestože působí proti spále dobře, jsou neperspektivní a nevhodné z hlediska hygieny a ochrany životního prostředí. Použitá rtuť se hromadí v půdě, přechází do rostlinných a živočišných organismů a přes potravinový řetězec ohrožuje bezprostředně lidské zdraví. Přesto se sloučeniny rtuti pro svou dobrou účinnost zatím dále používají a hledá se za ně vhodná náhrada.

Tetramethylthiuramdisulfid je sice považován za relativně méně škodlivou látku, ve skutečnosti však je jeho poloviční letální dávka LD_{50} poměrně nízká - 865 mg na 1 kg živé váhy; je tedy tato látka asi pětikrát toxičtější než některé systemické fungicidy. Proti používání TMTD jsou proto námitky z hlediska zdravotního, zejména vzhledem k jeho prášivosti. Přípravek může vyvolat vážné zdravotní poruchy u pracovníků, kteří s ním přicházejí do styku, zejména pracovníků u mořiček a při setí.

Účinné chemické prostředky k ochraně řepy cukrové proti spále, které by neměly negativní vliv na životní prostředí nejsou zatím známe.

Spálu vzcházející řepy vyvolávají před vzejitím rostlin především mikromycety rodu *Pythium*, zvláště *Pythium ultimum* a *Pythium debaryanum*, jakož i další druhy tohoto rodu. Za slabšího pathogena je dosud považováno také *Pythium oligandrum* Drechsler.

Pythium oligardum bylo objeveno r. 1930 na kořenech hrachu jako jeden z patogenů. Jeho objevitel, C. Drechsler, zjistil sice už v roce 1943 při studiu hub, způsobujících hnilobu kořenů a nadzemních částí a plodů různých kulturních rostlin, jako rajčat, vodních melounů aj. v jižních severoafrické Unie, že *pythium oligardum*, podobně jako *Pythium periplocum* a *Pythium acanthicum*, parazituje na různých jiných pathogenních kmenech téhož rodu, jako je např. i *Pythium ultimum* a *Pythium debaryanum*, nepodařilo se však dosud využít těchto poznatků k biologické ochraně řepy cukrové proti spále (Drechsler, C., *Phytopathology*, 33 (1943), 4, 261-299). Nedávno studoval analogické biotické vztahy *Pythia oligarda* k mikroorganismům parazitujícím na obilí (např. *Gaeumannomyces graminis*) J.W. Deacon (*Trans. Br. Mycol. Soc.* 66 (3) 383-391 (1976) a zmiňuje se v této práci, že se mu podařilo omezit chorobu u pšenice, zaviněnou houbou *Pythium ultimum*, společnou inokulací této houby a *Pythium oligardum*, přičemž autor poznamenává, že omezení choroby může být způsobeno kompeticí obou kmenů, pokud jde o živiny, ale možná i přímým oslabením pathogenního *Pythia ultima* parazitickým druhem *Pythium oligardum*.

Pokud jde o řepu cukrovou, snažili se různí autoři o vypěstování rezistentních odrůd. Tak např. i P. Koch (*Groppo gior. adagric.* 20, 1974, 1 až 2, 8 až 12), který při práci s více kmeny rodu *Pythium* zahrnoval ve shodě s jinou literaturou *Pythium oligardum* do téže skupiny patogenů, jako např. i *Pythium ultimum* a *Pythium irregulare*. O případné biologické ochraně řepy cukrové proti zmíněným škůdcům není nic známo a v souvislosti s řepou cukrovou nebyla dosud existence mykoparasitismu v rhizosféře prokázána ani popsána. Naproti tomu byly široce rozpracovány pokusy s ochranou vzcházející řepy proti spále na základě využití antibiotik některými druhy mikromycet.

Jedním z nejznámějších je druh *Trichoderma viride*. Proti použití antibiotik v zemědělství jsou však závažné zdravotní námitky, zejména z obavy, aby při styku pracovníků s nižšími koncentracemi antibiotik, než jsou účinné dávky, se vyvolával vznik rezistentních pathogenních mikroorganismů. Kromě toho mají navržená antibiotika úzké spektrum účinnosti a jejich účinnosti a jejich účinek je v praxi nejistý, protože silně závisí na klimatických a půdních poměrech, např. na vlhkosti a na případné přítomnosti antagonistů v půdě. Inokulované mikroorganismy schopné produkovat antibiotika podléhají nejen četným antagonistům, ale i parazitům a za určitých podmínek mohou dokonce stimulovat růst některých patogenů.

Předmětem vynálezu je prostředek schopný při aplikaci na semena řepy cukrové jednak stimulovat růst vzcházejících rostlin, jednak je chránit proti spále. Prostředek se skládá ze suspenze buněk, oospór druhu *Pythium oligardum* v kapalině obsahující živiny a látky podporující klíčení oospór a růst mycelia, výhodně v kvasničném extraktu nebo roztoku melasy apod.

Při biologické ochraně musí použitý mykoparazit mít spolehlivý účinek v širokém rozmezí klimatických a půdních podmínek. Vynález se zakládá na zjištění, že patogenní vliv druhu *Pythium oligardum* na vzcházející rostlinky řepy cukrové, který podle literatury bylo možno předpokládat, je v přítomnosti jiných druhů rodu *Pythium* zanedbatelný, a že rostliny po inokulaci semen touto mikromycetou rostou dokonce zdravěji a rychleji než při kontrolních pokusech, kde nejsou mikromycety rodu *Pythium* vůbec přítomny. Toto zjištění je překvapující právě tak jako další zjištění, že *Pythium oligardum* není ve svém růstu inhibováno ani účinným producentem antibiotik, navrženým k aplikaci na semena řepy cukrové v boji proti spále, tj. druhem rodu *Trichoderma viride*. Naopak *Trichoderma viride* je v kontaktu s *Pythium oligardum* inhibováno, podobně jako jiné druhy produkující antibiotika, jež rovněž nejsou schopny růst druhu *Pythium oligardum* zastavit. Z toho je zřejmé že biologická ochrana podle vynálezu je účinnější a spolehlivější než známé použití mikroorganismů vytvářejících v půdě antibiotika, nehledě ani ke shora uvedené námitce z hlediska zdravotního.

Kromě kvasničného extraktu a zředěné melasy jako média, v němž jsou oospóry *Pythium oligardum* suspendovány, lze použít i extraktů z klíčků kukuřice, pšenice aj., nebo roztoků minerálních živin, k nimž byl přidán vhodný bílkovinný hydrolyzát, nebo jiných živných půd vhodných k pěstování mikroorganismů, popřípadě vzájemně kombinovaných. Popřípadě lze k suspenzi přidat i vhodná plniva jako křemenka, vermikulit, perlit, rozpustné deriváty celulózy, jako je karboxymethylcelulóza nebo tylóza, sloužící jako zhušťovač, popřípadě sulfidové odpadní louhy aj. Při dostatečném množství těchto komponent se vytvoří na semenech obal. Pro setí jednoklíčkových semen je nejvhodnější přípravek v podobě suspenze oospór v kapalném prostředí bez plniv a zhušťovačů.

Výhodou druhu *Pythium oligardum* v biologické ochraně řepy cukrové proti spále je jeho rychlý růst, takže při inokulaci semen oospórami rychle vyrovnává náskok patogenů, předtím už vytvořivších mycelia v půdě, a stačí je v okolí zlikvidovat dříve, než mohou napadnout vzcházející rostlinu. *Pythium oligardum* je značně odolné proti jiným mikroorganismům a má značný rozsah hostitelů - kromě mikromycet rodu *Pythium* napadá i četné druhy rodu *Aphanomyces*, *Fusarium* a druhu *Rhizoctonia solani*, které rovněž vzcházející řepu cukrovou poškozují.

199 908

Zároveň dochází ke stimulaci růstu rostlin, které jsou jednak odolnější, v kritickém stádiu, jednak toto kritické stadium rychleji překonávají.

Shora uvedené živiny přidávané do suspensního média mají na suspenzi oospór stabilizační účinek, protože zvyšují viskozitu a snižují povrchové napětí. Po vyschnutí na povrchu semen vytvářejí adhesivní povlak, který oospóry chrání v suchém stavu, avšak ve styku s vlhkou půdou se rychle rozpouští a umožňuje rychlé vyklíčení oospór.

Přípravek může obsahovat vhodné inokulum nepoškozující insekticidní přípravky, zejména deriváty furanu, jako je např. 0-(2,3-dihydro-2,2-dimethylbenzofuran-7-yl)-N-methylkarbamát, známý pod chráněnou obchodní slovní známkou "carbofuran", popřípadě "furan". Tyto přípravky mohou být vedle toho aplikovány i přímo do půdy v granulované formě při seti.

Podle potřeby lze dále přidávat i stimulanty podporující klíčení a zakořenění apod.

Prostředek podle vynálezu lze aplikovat na semena máčením nebo postřikem s následujícím sušením, např. v zařízení, v němž jsou semena nadnášena proudem plynu obsahujícího napřed přípravek rozprášený v podobě aerosolu a nakonec mírně ohřátého, aby se dokončilo sušení ve vzhledu a nedocházelo ke slepování semen.

Příklad

Oospóry druhu *Pythium oligardum* se suspendují v kvasničním extraktu v množství 10^2 až 10^7 na 1 ml. Do suspenze se vmíchá takové množství semen geneticky jednoklíčkové odrůdy "Monohydrid Seměice", aby všechna byla stejnoměrně smočena, přebytečná kapalina se nechá odtéci a semena se osuší na pohyblivém sítu v proudu suchého 35°C teplého vzduchu. Suchá semena byla zaseta do nesterilizované orniční půdy a výsledky byly porovnány s pokusnou setbou stejného řepného osiva, avšak místo přípravku podle vynálezu mořeného přípravkem Hermal, obsahujícím 70 % tetramethylthiuramidisulfidu, v množství 600 g na 100 kg osiva. V této kontrolní setbě vzešlo v průměru 25,0 rostlin ve fázi děložních lístků z každých 30 vysetých semen. Toto množství bylo pro srovnání označeno jako 100 %.

Zároveň byla zaseta do stejné půdy semena neošetřená jakýmkoliv přípravkem. Tato setba měla vzhledem ke shora uvedenému standartu vzházivost jen 40 % v první fázi po proražení povrchem půdy ve stadiu děložních lístků, kdežto setba ošetřená přípravkem podle vynálezu měla v této fázi vzhledem k témuž standartu vzházivost 80 %.

Počet zdravých rostlin byl kontrolován ve třídních intervalech, přičemž bylo zjištěno, že poměr vždy vztažený na příslušný počet rostlin pokusného standartu s TMTD považovaný za 100 %, se postupně mění ve prospěch setby ošetřované přípravkem podle vynálezu, jak ukazuje následující srovnávací tabulka, která je výsledkem mnohokrát opakovaných pokusů:

T a b u l k a 1

Počet hodnocení	1.	2.	3.	4.	5.	6.
Standart s TMTD	100	100	100	100	100	100
Neošetřené osivo	40	30	26	29	32	31
S prostředkem podle vynálezu	80	90	102	120	128	130

Výsledek ukazuje, že prostředek podle vynálezu je podstatně účinnější, přičemž nedochází k narušování životního prostředí. *Pythium oligardum* je mikromyceta osidlující půdu

a byla zjištěna v ornících řady zemí (v roce 1972 i v ČSSR, viz VESELÝ, D. Microorganism Colonizing the Seeds and Rhizosphere of Sprouting Sugar Beet Plants and their Relationship to Sugar Beet Black Root Disease. Folia microbiologica. Vol. 21, 3:213-214, 1976).

Použití prostředku proto nezpůsobuje ani porušení biologické rovnováhy přírodního prostředí.

Význam vynálezu tkví v tom, že nanesení nepatrného množství neškodného inokula na semeno se dosáhne překvapujícího výsledku, které umožňuje plné využití výhod moderních technologií pěstování cukrovky, přičemž použitá metoda nemá vliv na životní prostředí.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Prostředek stimulující při aplikaci na semena řepy cukrové růst vzcházejících rostlin a chránící je proti spále, vyznačený tím, že obsahuje suspenzi buněk, oospór mikromycety druhu *Pythium oligardum* v kapalině obsahující živiny a látky podporující klíčení oospór a růst mycelia, jako je kvasniční výtažek.