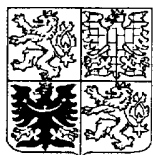


PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

286 623

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **1996 - 412**

(22) Přihlášeno: **05.08.1994**

(30) Právo přednosti:
12.08.1993 DE 1993/4327056

(40) Zveřejněno: **15.05.1996**
(Věstník č. 5/1996)

(47) Uděleno: **21.03.2000**

(24) Oznámeno udělení ve Věstníku: **17.05.2000**
(Věstník č. 5/2000)

(86) PCT číslo: **PCT/EP94/02598**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 95/05082**

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.⁷:
A 01 N 57/20

(73) Majitel patentu:

HOECHST SCHERING
AGREVO GMBH, Berlin, DE;

(72) Původce vynálezu:

Günter Donn, Hofheim, DE;

(74) Zástupce:

Všetečka Miloš JUDr., Hálkova 2, Praha 2,
120 00;

(54) Název vynálezu:

**Způsob zvýšení výnosu užitkových rostlin
rezistentních na inhibitor glutaminyntetázy**

(57) Anotace:

Způsob zvýšení výnosu užitkových rostlin, rezistentních na herbicidy, zejména na inhibitor glutamin-syntetázy, při kterém se rostliny zpracují aplikačním množstvím inhibitorů glutaminyntetázy jako stimulátorů výnosu, které rostliny nepoškozuje, zejména glufosinat a jeho soli. Použití inhibitoru glutaminyntetázy pro zvýšení výnosů u transgenových užitkových rostlin.

CZ 286623 B6

Způsob zvýšení výnosu užitkových rostlin rezistentních na inhibitor glutaminsyntetázyOblast techniky

5

Vynález se týká způsobu zvýšení výnosů užitkových rostlin rezistentních na herbicidy, konkrétně rezistentních na inhibitor glutaminsyntetázy, a použití inhibitoru glutaminsyntetázy, konkrétně glufosinatu, pro zvýšení výnosů užitkových rostlin.

10

Dosavadní stav techniky

Sloučenina aminium-D,L-homoalanin-4-yl(methyl)-fosfinát (glufosinate, glufosinate-ammonium, Schwerdtle a kol., Z. Pflanzenkr. Pflanzenschutz., 1981, Sonderheft IX, str. 431) působí jako inhibitor glutaminsyntetázy (GS), neboť se zde jedná o strukturní analog kyseliny glutaminové. Glutamin-syntetáza hraje u všech rostlin centrální roli v metabolismu. Je zodpovědná za detoxikaci NH_3 , což má za následek, že všechny polní rostliny po aplikaci glufosinatu jsou silně poškozené, popřípadě usmrcené znemožněnou asimilací amoniaku.

Přenesením a expresí glufosinat-acetyltransferázového genu, který byl izolován z kmenů straptomycet, produkujících bialaphos (fosfinothricin-alanyl-alanin, EP-B1 0 242 236 a EP-B1-0 257 542), je umožněno připravení rostlin, které jsou rezistentní vůči herbicidnímu účinku GS-inhibitorů. Takové transgenové porosty kulturních rostlin, snášejících herbicidy, se mohou zpracováním pomocí glufosinatu po vzejití rostlin efektivně udržovat prosté plevelů.

25

Podstata vynálezu

V polních pokusech s takovými transgenovými rostlinami se neočekávaně ukázalo, že rostliny zpracované pomocí glufosinatu poskytují měřitelně vyšší výnosy než nezpracované porosty rostlin. Tento zvýšený výnos nelze vztahovat na výborné zničení plevelů pomocí glufosinatu a na jeho dokonalou přijatelnost v porostech transgenových kulturních rostlin, ale na pozitivní efekt zpracování herbicidem, ovlivňující růst a výnos.

Podstata způsobu zvýšení výnosu užitkových rostlin, rezistentních na inhibitor glutaminsyntetázy podle vynálezu spočívá v tom, že se rostliny zpracují aplikačním množstvím inhibitorů glutaminsyntetázy jako stimulátorů výnosu, které rostliny nepoškozuje.

Ve výhodném provedení tohoto postupu se pro výnos zvyšující zpracování užitkových rostlin, které jsou expresí N-acetyltransferázového genu chráněné před herbicidním účinkem inhibitorů glutaminsyntetázy, použije glufosinat a jeho soli.

Užitkové rostliny se ve výhodném provedení tohoto postupu zpracují alespoň jednou aplikačním množstvím účinné látky, která se také použije pro potírání plevelů. Podle tohoto výhodného provedení se užitkové rostliny ošetří alespoň jednou 150 až 1000 gramy glufosinatu/ha, nejvýhodněji 350 až 700 gramy glufosinatu/ha.

Do rozsahu předmětného vynálezu rovněž náleží použití inhibitoru glutaminsyntetázy pro zvýšení výnosů užitkových rostlin, které jsou rezistentní vůči tomuto inhibitoru.

50

Ve výhodném provedení se použije glufosinatu a jeho solí pro zvýšení výnosů u transgenových užitkových rostlin.

Předmětem předloženého vynálezu je tedy výše uvedený způsob zvýšení výnosu užitkových rostlin rezistentních na inhibitor glutaminsyntetázy, při kterém se rostliny zpracují množstvím inhibitorů glutaminsyntetázy, které rostliny nepoškodí a zejména se použijí inhibitory glutaminsyntetázy, které jsou expresí N-acetyltransferázového genu chráněné před herbicidním účinkem inhibitorů glutaminsyntetázy. Kromě toho se vynález týká použití inhibitorů glutaminsyntetázy pro zvýšení výnosů užitkových rostlin, které jsou vůči tomuto inhibitoru rezistentní. Týká se obzvláště použití inhibitorů glutamin syntetázy pro zvýšení výnosů transgenových užitkových rostlin.

Jako inhibitor glutamin syntetázy se výhodně použije sloučenina glufosinat nebo bialaphos (Tachibana a kol., Abstr. 5. Int. Congr. Pestic. Chem. IVa, Abstract 19; Maese, Jpn. Pestic. Inf., 1984, No 45, str. 27). Výraz glufosinat zahrnuje v této souvislosti jak racemát, kyselinu D,L-homoalanin-4-yl(methyl)-fosfinovou), tak také biologicky aktivní L-isomer a odpovídající soli. Herbicid se může použít ve formě obvyklých komerčních přípravků. Další příklad GS-inhibitoru představuje sloučenina phosalacin (Omura a kol., J. of Antibiotics, Vol. 37, 8, str. 939-940, 1984).

Výnosy zvyšující efekt zpracování pomocí glufosinatu nastává obzvláště tehdy, když se zpracování herbicidem provádí ve stadiu 2 až 8 listů, výhodně 3 až 6 listů kulturních rostlin před květem, popřípadě u víceletých rostlin v libovolném okamžiku.

Při způsobu podle předloženého vynálezu se rostliny zpracují alespoň jednou množstvím herbicidu, které se také použije pro potírání plevelů, například 150 gramy až 1000 gramy glufosinatu/ha.

V závislosti na rostlinách, jejich velikosti a na klimatických podmínkách se však může potřebné aplikované množství měnit.

Obzvláště dobře se může způsob používat při aplikovaných množstvích 350 až 700 gramů glufosinatu/ha. V tomto rozmezí aplikovaného množství je dosažený efekt proporcionální k aplikovanému množství glufosinatu, bez toho, že by byl podmíněn rozdíly v úspěchu při potírání plevelů. Již při nízkém aplikovaném množství PTC se může dosáhnout kontroly plevelu, která je srovnatelná s kontrolou při vyšších aplikovaných množstvích.

Obzvláště výhodné je vícenásobné zpracování rostlin s nepatrnými dávkami ve spodní oblasti aplikovaných koncentrací, které se provádí v odstupu několika dní, to znamená v rozmezí 2 až 30 dnů, výhodně v rozmezí 5 až 20 dnů a obzvláště výhodně 8 až 15 dnů. Zcela obzvláště výhodné je zpracování rostlin nízkými dávkami, které se provádí v rozmezí 9 až 11 dnů.

Postup podle předloženého vynálezu se může použít obecně pro ošetření rostlin, které jsou rezistentní vůči inhibitorům glutamin syntetázy. Rezistentní rostliny se mohou získat také pomocí dosavadních způsobů pěstování. Pokud konvenční selekcí získané rostliny mají úroveň resistance srovnatelnou s transgenovými rostlinami, mohou se rovněž zpracovávat způsobem podle předloženého vynálezu. Tento postup je však vhodný obzvláště pro zpracování rostlin rezistentních vůči glufosinatu, které byly získány přenesením genu resistance vůči herbicidu. V EP-B-0 242 236 a EP-B1 0 257 542 je popsán způsob, kterým se mohou tyto rostliny připravit.

Výraz rostliny zahrnuje v této souvislosti užitkové rostliny z obou skupin Angiospermae a Gymnospermae. Jak jednotlivé rostliny, tak také kultury rostlin se mohou ošetřovat způsobem podle předloženého vynálezu.

Z Gymnospermae má obzvláštní význam třída Coniferae.

Z Angiospermae mají obzvláštní význam rostliny rodů Solanaceae, Cruciferae, Compositae, Liliaceae, Vitaceae, Chenopodiaceae, Rutaceae, Bromeliaceae, Rubiaceae, Theaceae, Musaceae nebo Gramineae, jakož i řádu Leguminosae. Výhodně se zpracovávají zástupci rodů Solanaceae, Cruciferae a Gramineae.

5

Způsob podle předloženého vynálezu má obzvláštní význam pro zpracování kulturních rostlin, u nichž mají výtěžky sklizně zvláštní význam, jako je například kukuřice, sója, letní a zimní řepka, cukrová řepa, vojtěška, slunečnice, bavlna, brambory, pšenice, ječmen a rýže. Může být ale také výhodné tento způsob použít u rajčat a jiných druhů zeleniny, jako jsou okurky, jakož i u ovoce, jako jsou melouny, jahody, ostružiny, kiwi a podobně.

10

Také má zvláštní význam použití tohoto způsobu ve dřevinách rezistentních na herbicidy, jako jsou například plantáže a školky.

15

Aplikací inhibitorů glutamin syntetázy, jako například PTC a jejich analogů a derivátů, na malé rostliny dřevin se může jejich vývoj urychlit. Obzvláště je zde možno jmenovat ořešáky, kokosové palmy, ovocné stromy, topoly a jiné vysazované rostliny, které se počítají ke dřevinovým porostům.

20

Způsob podle předloženého vynálezu má tedy význam jak v zemědělství, tak také v zahradnictví, neboť aplikací herbicidního inhibitoru glutamin syntetázy se bez dodatečného použití hnojiva a růstových regulátorů rostlin se může dosáhnout značného zvýšení výnosů. Výraz zvýšení výnosů znamená v této souvislosti, že rostliny mají výnos větší až o 50 %. Herbicidy s jiným druhem účinku tento efekt buď nevykazují, nebo mají často negativní účinek na výnos.

25

Účinek ošetření pomocí glufosinatu podporující růst se může zjišťovat pomocí polních nebo hrnkových pokusů tak, že se srovnávají výnosy s porosty rostlin, které byly ošetřeny konvenčními herbicidy nebo které byly udržovány bez plevelů nechemickými postupy.

30

Příklady provedení vynálezu

Následující příklady provedení slouží k objasnění vynálezu, aniž by byl rozsah vynálezu těmito příklady nějak omezen.

35

Příklad 1

40

Transgenové glufosinat tolerantní rostliny kukuřice, popřípadě sóji se vysadí na záhon (10 m²) a ve stadiu 3 až 5 lístků se ošetří různým množstvím glufosinatu. Bonitura ničení plevelů se provádí 42 dnů po aplikaci. V době zralosti se záhony sklídí a výnos se zjistí zvážení získaných zrn.

45

Při zkoušení rostlin kukuřice se jako srovnávací prostředek používá Laddock^R (směs Atrazinu a Bentazonu). Pro ošetření rostlin sóji se použijí dva prostředky. Srovnávací prostředek 1 obsahuje směs 134 gramů fenoxaprop-P-ethyl/ha a 425 gramů fomesafen/ha; srovnávací prostředek 2 obsahuje 2240 gramů metolachlor/ha a 840 gramů Storm^R (směs Bentazonu a acifluorfeny)/ha. Srovnávací prostředek jsou známé z publikace „The Pesticide Manual“, 9. vydání, Brit. Corp. Prot. Council, 1991.

50

V následující tabulce č. 1 jsou uvedeny výsledky získané při ošetření kukuřice (srovnávací prostředek Laddock^R).

V tabulce č. 2 jsou uvedeny výsledky získané při ošetření sóji, přičemž toto ošetření bylo provedeno dvěma nízkými dávkami glufosinatu v odstupu 10 dnů (srovnávací prostředky 1 a 2, viz výše).

5

Tabulka 1

	Aplikované množství glufosinatu (g/ha)			srovnávací prostředek
	150	450	650	
potírání plevelů účinek v %	92	97	98	78
výnos v % ve srovnání se srovn. prostř.	118	121	125	100

10

Tabulka 2

Výnos zrn rostlin sóji snášející glufosinat po aplikaci glufosinatu

	Aplikované množství glufosinatu g/ha								srovn. prost.	
	350	450	550	650	150 +150	250 +250	350 +350	450 +450	1	2
kontrola plevelu (%)	85	93	95	94	96	96	98	99	98	90
výnos v % (vztaženo na parcelu se srov. pr. 1)	88	108	120	132	104	132	148	152	100	92

15

PATENTOVÉ NÁROKY

20

1. Způsob zvýšení výnosu užitkových rostlin rezistentních na inhibitor glutaminsyntetázy, **vyznačující se tím**, že se rostliny zpracují aplikačním množstvím inhibitorů glutaminsyntetázy jako stimulátorů výnosu, které rostliny nepoškozuje.

25

2. Způsob podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že se pro výnos zvyšující zpracování užitkových rostlin, které jsou expresí N-acetyltransferázového genu chráněné před herbicidním účinkem inhibitorů glutaminsyntetázy, použije glufosinat a jeho soli.

30

3. Způsob podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že se užitkové rostliny alespoň jednou zpracují aplikačním množstvím účinné látky, která se také použije pro potírání plevelů.

4. Způsob podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že se užitkové rostliny ošetří alespoň jednou 150 až 1000 gramy glufosinatu/ha.

35

5. Způsob podle nároku 4, **vyznačující se tím**, že se užitkové rostliny ošetří 350 až 700 gramy glufosinatu/ha.

6. Použití inhibitoru glutaminsyntetázy pro zvýšení výnosů užitkových rostlin, které jsou rezistentní vůči tomuto inhibitoru.
- 5 7. Použití glufosinatu a jeho solí pro zvýšení výnosů u transgenových užitkových rostlin.

10

Konec dokumentu
