



УКРАЇНА

(19) UA (11) 38265 (13) U

(51) МПК (2006)

A01N 63/00

A01P 3/00

A01C 1/06

A01C 1/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ПІДВИЩЕННЯ ПРОДУКТИВНОСТІ ТА СТІЙКОСТІ РОСЛИН ДО ХВОРОБ

1

2

(21) u200810756

(22) 29.08.2008

(24) 25.12.2008

(46) 25.12.2008, Бюл.№ 24, 2008 р.

(72) ПОТОПАЛЬСЬКИЙ АНАТОЛІЙ ІВАНОВИЧ,
UA, КАЦАН ВАЛЕНТИНА АНДРІЙВНА, UA, ЮРКЕ-
ВИЧ ЛАРИСА НАЗАРІВНА, UA, ЛОЗІЮК ЛЮБОВ
ВАСИЛІВНА, UA(73) ІНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ І ГЕНЕ-
ТИКИ НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ,
UA(57) 1. Спосіб підвищення продуктивності та стій-
кості рослин до хвороб, що включає операцію об-
робки рослин імуномодуючим препаратом, який
відрізняється тим, що як імуномодуючий пре-парат використовують водну суспензію препарату
Ізатізон в діапазоні співвідношень об'ємів Ізатізон:
вода від 1:20 до 1:1, якою обробляють різні органи
рослин.2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що рос-
лини обробляють водною суспензією препарату
Ізатізон шляхом їх обприскування.3. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що
низькорослі й карликові рослини обробляють
водною суспензією препарату Ізатізон шляхом їх
занурення у водну суспензію препарату Ізатізон на
2,5-3,0 хвилини на день протягом трьох днів.4. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що на-
сіння рослин обробляють шляхом змішування його
із водною суспензією препарату Ізатізону.

Пропонована корисна модель відноситься до
сільського господарства, а більш конкретно до
способів підвищення продуктивності та стійкості
рослин до хвороб, шляхом використання препара-
ту Ізатізон. Пропонований спосіб може бути вико-
ристаний для підвищення продуктивності та зни-
ження ураженості фітопатогенними
мікроорганізмами томатів, зернових, олійних, лі-
карських, овочевих та ін., переважно в період ве-
гетації.

Фітопатогенні гриби, бактерії та віруси спричи-
няють загибель рослин та значне зниження їхньої
врожайності, особливо в останній час, у зв'язку з
ослабленням рослин унаслідок техногенного за-
бруднення довкілля. Тому пошуки методів підви-
щення стійкості рослин до враження інфекційними
агентами є дуже актуальними. В останній час
першочергового значення набуває проблема під-
вищення стійкості культурних рослин до вірусів.

Серед сучасних способів підвищення стійкості
рослин до ураження фітопатогенними вірусами
відомі такі, які полягають у використанні хімічних
речовин для знешкодження вірусів, що можуть
потрапити в тканини рослин упродовж життєвого
циклу [1], надання рослинам імунітету завдяки
уведенню генів стійкості до вірусів [2-4], а також

методи індукування природної імунності в рослин
за допомогою біогенних та абіогенних еліситорів
[5-9]. Найбільш перспективними в економічному
відношенні та екологічно безпечними є методи
індукування природного імунітету, оскільки така
індукована стійкість зберігається упродовж усього
життєвого циклу рослин, не потребує повторних
обробок і може бути не пов'язаною із застосуван-
ням речовин, які не є безпечними для довкілля.

Недоліком способів, пов'язаних із застосуван-
ням біогенних еліситорів, є недостатня ефектив-
ність та висока собівартість, порівняно із застосу-
ванням хімічних методів захисту рослин, зокрема,
фунгіцидів. Крім того, в розробках, присвячених
індукуванню імунітету за допомогою біогенних елі-
ситорів, нічого не повідомляється про стійкість до
вірусів [5, 6]. Системну стійкість до вірусу огіркової
мозаїки в рослин томатів можна індукувати в куль-
турі in vitro за допомогою озону, і така індукована
стійкість має важливу особливість - вона підтри-
мується в рослин-регенерантів упродовж кількох
поколінь [9], що може бути обумовлене успадкову-
ванням транскрипційно активного стану генів, від-
повідальних за становлення та підтримку систем-
ної стійкості до вірусів у рослин.

Відомий спосіб імунізації рослин проти бакте-

(13) U

(11) 38265

(19) UA

ріозу та застосовувані сполуки, за яким підвищення імунітету в рослинах відбувається за допомогою гетероциклічних сполук, які мають також фунгіцидну та інсектицидну дію [Патент України на винахід №78555, МПК (8-а редакція) A01N43/653, A01N37/36, A01N37/50, A01N43/40, A01N43/54, A01N43/56, A01N47/24, A01P1/00; дата публікації заявки - 15.11.2004, Бюл. №4 від 10.04.; дата набрання чинності 10.04.2007 [7]]. Недоліками способу є те, що запропоновані хімічні сполуки не токсичні для рослин, проте мають також фунгіцидну та інсектицидну дію, тому вони не є екологічно безпечними. За допомогою даного методу у рослин індукується стійкість до фітопатогенних бактерій, проте нічого не сказано про індукування стійкості до вірусів. Сполуки, запропоновані для індукування імунності в рослин згідно способу, мають досить складну хімічну природу - вони є 5-6-членними гетероциклами, містять значну кількість замісників.

Також відомий засіб для підвищення продуктивності та стійкості тютюну до вірусних захворювань, відповідно до якого застосовують ацетат N-окис 2-метилпіридинмарганець /II/ хлорид в якості засобу для підвищення продуктивності та стійкості тютюну до вірусних захворювань [Патент України на корисну модель №39193, МПК (2006) C07D231/00, C07F 13/00, A01P 15/00, A01N 43/40 (2007.01); дата публ. заявки - 30.04.1998, дата набрання чинності - 15.06.2001 [8]]. Недоліками способу є те, що запропонована для індукування стійкості до вірусів сполука - хлорид N-окису 2-метилпіридинмарганцю індукує імунітет тільки в тютюну, крім того, є регулятором росту рослин і, згідно її хімічній природі, не є екологічно безпечною.

Найбільш близькими до запропонованого способу за кількістю суттєвих ознак є способи підвищення стійкості рослин до хвороб, відповідно до якого для підвищення стійкості рослин до хвороб використовують препарати з екстрактів міцелію грибів, а саме, насіння та/або рослини обробляють комплексом екстрагованих із афілофоральних грибів неспецифічних біогенних елісаторів різної природи, який містить олігосахариди, глікопротеїни, білки, поліпептиди, ліпіди, меланіни та буферну речовину у нейтральному або лужному середовищі із розрахунку 50-500 г комплексу елісаторів на тону насіння або 100-1000г на гектар рослин в період вегетації [Патент України на корисну модель №29953, МПК (2006) A01N 63/00, A01N 65/00, A01P 1/00, A01P 3/00]; дата подання заявки 27.02.2007; дата набрання чинності 10.02.2008, Бюл. №3 від 11.02.2008р. [5]]. Недоліками способу є те, що запропонований препарат, який містить комплекс елісаторів афілофоральних грибів, індукуючи стійкість до широкого кола фітопатогенних грибів та захищаючи від них значну кількість видів рослин, не забезпечує стійкість рослин до інших фітопатогенів, зокрема вірусів. Термін придатності такого препарату обмежений, оскільки він є біологічного походження, а його собівартість є досить високою.

Препарати, які здатні індукувати довготривалу системну стійкість у рослин до широкого кола па-

тогенів, тобто підвищувати їхній імунний статус і здатні підвищувати їхню продуктивність, фактично відносяться до імуномодуючих препаратів, специфічних для рослин.

В основу запропонованої корисної моделі поставлено задачу розробити такий спосіб підвищення продуктивності та стійкості рослин до хвороб, який би дозволив зменшити вартість здійснення та підвищення ефективності способу.

Поставлена задача вирішується запропонованим способом, який як і відомий спосіб включає операцію обробки рослин імуномодуючим препаратом, а відповідно до пропозиції, у як імуномодуючий препарат використовують водну суспензію препарату Ізатізон в діапазоні співвідношень об'ємів Ізатізон:вода від 1:20 до 1:1, якою обробляють різні органи рослин.

Особливістю запропонованого способу є і те, що рослини обробляють водною суспензією препарату Ізатізон шляхом їх обприскування.

Особливістю запропонованого способу є і те, що низькорослі й карликові рослини обробляють водною суспензією препарату Ізатізон шляхом їх занурення у водну суспензію препарату Ізатізон на 2,5-3,0 хвилини на день протягом трьох днів. Особливістю запропонованого способу є і те, що насіння рослин обробляють шляхом змішування його із водною суспензією препарату Ізатізон.

Поставлена задача вирішується за рахунок використання водної суспензії препарату Ізатізон та експериментально підібраних співвідношень об'ємів Ізатізон:вода, необхідних для підвищення продуктивності та стійкості рослин до хвороб.

Діючою основною речовиною препарату Ізатізон є метисазон, який є аналогом природної сполуки ізатіну. "Ізатізон" - це комплексний антибактеріальний, антивірусний та протигрибковий препарат, якому притаманна імуномодуюча дія і який забезпечує високий лікувально-профілактичний, протизапальний і антигістамінний ефекти при застосуванні для лікування тварин і людей [10-13]. Диметилсульфоксид та поліетиленгліколь 400 (твін) використані для розчинення метисазону та підвищення його проникнення в біологічні субстанції. Для підвищення продуктивності та стійкості рослин до фітопатогенів препарат Ізатізон авторами застосовано уперше.

Приклад 1. Антивірусна дія препарату Ізатізон в дослідях на томатах в умовах захищеного ґрунту.

Матеріалом для дослідження слугували рослини томатів зарубіжної селекції. Контроль - лінія томатів, виділена авторами із цього ж матеріалу. Нормально розвинуті рослини характеризувалися детермінантним типом куща, висотою до 1,8-2,0м, плоди - подовжено-овальної форми, довжиною від 5,0 до 6,5см.

Хворі рослини характеризувалися зменшеною висотою (1м), сильно деформованими листками (скручені, нитковидні, тонкі). Відзначали карликові рослини із сильно зміненими листками. Плоди у хворих рослин були сильно деформованими (перцевидної форми), розміром 1,0-3,0см. Часто суцвіття не формували зав'язі, а плоди - насіння. На стадії плодоношення спостерігали бронзуватість

та темно-фіолетові плями.

Для діагностики було обрано метод індикаторів [1]. У якості індикаторів використовували рослини *Datura stramonium* та *Nicotiana tabacum*. Проявлення та симптоми захворювання в рослин-індикаторів після їх інюкуляції соком хворих рослин вказують на наявність вірусу тютюнової мозаїки (ВТМ).

Для вивчення терапевтичної дії препарату Ізатізон на хворі рослини томатів використовували суспензію препарату у воді при співвідношенні об'ємів Ізатізон : вода, яке дорівнює 1:10 та 1:20.

Обробка проводилася шляхом:

а) обприскування із пульверизатора листя та всієї рослини;

б) протирання листя ватним тампоном, змоченим відповідним розчином;

в) занурення всієї рослини (карлики) в розчини препарату;

г) обробки насіння Ізатізонам у співвідношенні 1:10 з експозицією 12-24 години.

Обробку проводили кожним із наведених способів через день і протягом трьох днів підряд.

Аналіз проведених досліджень показав, що при всіх наведених способах обробки суспензією препарату Ізатізон у співвідношенні 1:10 позитивних результатів не спостерігали. Найкращий ефект отримано при обприскуванні листків (зверху й знизу) суспензією препарату у співвідношенні 1:20, а також при зануренні карликових рослин на 3 хвилини в суспензію препарату впродовж 3-х днів.

Через 7 днів спостерігали оздоровлення точок росту рослин та розвиток здорових бічних пагонів. В подальшому рослини розвивалися нормально та плодоносили.

Позитивний оздоровлювальний ефект спостерігали в 90% хворих рослин після дії водної суспензії препарату Ізатізон у співвідношенні 1:20. Поряд з цим спостерігали також стимулюючу дію препарату - збільшення кількості та маси плодів, що призводило до підвищення врожайності.

Потомство, вирощене із насіння рослин, яке

піддавали обробці водною суспензією препарату Ізатізон, вивчали на наявність хворих рослин в умовах захищеного ґрунту та в умовах дрібних ділянок польового досліду. Проаналізовано 100 рослин. Після дії водної суспензії препарату Ізатізон рослин із захворюванням на вірус тютюнової мозаїки (ВТМ) не виявлено. Ці дані можуть бути свідченням підтримки експресії генів, відповідальних за системну стійкість, у поколіннях рослин, які зазнали дії водної суспензії препарату Ізатізону. Аналогічні результати отримано індійськими вченими при дії озону на каллюсну культуру томатів - індукована стійкість до вірусу огіркової мозаїки виявлялась принаймні в 3-х поколіннях рослин-регенерантів, отриманих із обробленого каллюсу [9]. Результати досліджень на томатах показують, що обприскування водною суспензією препарату Ізатізон пригнічує розвиток вірусної інфекції в рослин. Пригнічуючи вірусну інфекцію, препарат Ізатізон не пригнічує розвиток рослин, а в деяких випадках стимулює їхню продуктивність.

Виявлена залежність від способу обробки та концентрації препарату. Кращою була обробка протягом 3-х днів шляхом обприскування листків та точок росту водною суспензією препарату Ізатізон при співвідношенні 1:20.

Оскільки поряд з індукуванням стійкості до вірусу тютюнової мозаїки препарат Ізатізон спричинював підвищення продуктивності рослин, авторами було досліджено також вплив Ізатізону на продуктивність зернових та лікарських рослин, що показано в наступних прикладах.

Приклад 2. Стимулююча дія препарату Ізатізон на проростання насіння лікарської рослини Лаконос американський. У звичайних умовах насіння цієї рослини проростає дуже погано.

Використовували водну суспензію препарату Ізатізон (1:20).

Дослід проводили в умовах захищеного ґрунту.

Виявлена стимулююча дія на проростання насіння Лаконосу американського (табл. 1).

Таблиця 1

Схожість насіння Лаконосу американського після застосування водної суспензії препарату Ізатізон (1:20)

Препарати	Схожість насіння, М±m (1999р.)	Схожість насіння, М±m (2000р.)
Контроль	30,0±0,15	34,0±0,25
Ізатізон	34,0±0,05*	69,0±0,10*

Примітка: * - різниця достовірна при P<0,05

Приклад 3. Стимулююча дія препарату Ізатізон на врожайність у ярого жита, вівса та ячменю чорного в умовах захищеного ґрунту.

Насіння замочували на 24 години у водній суспензії препарату Ізатізон у співвідношенні 1:1.

При дії препарату Ізатізон виявили тенденцію до підвищення врожайності в ярого жита та статистично вірогідне збільшення врожайності у вівса та ячменю (табл. 2).

Таблиця 2

Врожайність насіння зернових культур
після обробки препаратом Ізатізон (в умовах захищеного ґрунту)

Культури	Варіант обробки	Вага насіння, г
Жито яре	Контроль (вода)	13,000±0,355
	Ізатізон	16,000±0,935
Овес	Контроль (вода)	35,000±1,813
	Ізатізон	46,000±0,932*
Ячмінь	Контроль (вода)	10,000±0,582
	Ізатізон	15,000±0,320*

Примітка: * - різниця достовірна при $P < 0,01$

Приклад 4. Вплив препарату Ізатізон на врожайність ярого жита.

Яре жито сильно вражається бурюю іржею та ріжками (паразитарні гриби), внаслідок чого знижується його врожайність.

В дослідженнях насіння перед посівом замочували на 24 години в водній суспензії препарату Ізатізон (1:1).

Аналіз елементів продуктивності виявив тенденцію до підвищення озернення колосу, а маса

зерна з головного колосу та маса 1000 зернівок після дії водної суспензії препарату Ізатізон перевищували контроль.

Отже, передпосівне замочування насіння жита в водній суспензії препарату Ізатізон пригнічує розвиток паразитарних грибів, сприяючи підвищенню врожайності.

Загальний врожай із ділянки після дії водної суспензії препарату Ізатізону підвищується в 1,2 рази (табл. 3).

Таблиця 3

Структурний аналіз елементів продуктивності ярого жита Світанок після дії препарату Ізатізон (в умовах дрібноділяночних дослідів)

Елементи продуктивності	Контроль	Обробка насіння Ізатізоном
Довжина стебла, см	118,30±3,10	120,1±2,10
Довжина головного колосу, см	9,45±0,35	10,01±0,84
Озернення, %	56,93±0,03	60,40±2,01
Маса зерна з головного колосу, г	0,45±0,04	1,71±0,18*
Кількість стебел, шт.	3,20±0,38	4,00±0,45
Маса 1000 зерен, г	34,20±0,58	45,0±0,86*

Примітка: різниця вірогідна при $P = 0,01$

Джерела інформації:

1. Бобыр А. Д. Химиопрофилактика и терапия вирусных болезней растений. - Киев: Наукова думка, 1976. - 256 с.

2. Патент України №70915, 15.11.2004, МПК C12N15/82, A01N 5/00, C07K14/08. Спосіб індукування стійкості до вірусу, що містить послідовність потрібного блока генів 3, за умови, що це не Х вірус картоплі, у клітині рослини або рослині. Трансгенна рослина, стійка до вірусів. / У. Гюйє (FR), Ж. Жонар (FR), К. Річардс (FR), С. Бузубаа (FR), К. Блейкастен-Гроссханс (FR), Г. Вейєн (BE), М. Лефевр (BE); Заявка (PCT) №99020962; 18.08.1997; Опубл. 29.03.2000.

3. Патент України №29438, 15.11.2000, МПК (2006) A01N 5/00, C12N 5/10, C12N 9/12, C12N 15/09, C12N 15/54, C12N 15/82. Спосіб отримання резистентної до вірусу трансгенної рослини. / М. Саарма (F1), М. Келве (EE), Е. Труве (EE), Т. Теєрі (F1); Заявка (PCT) №94105927; 24.09.1992.

4. Патент України №79731, 25.07.2007, МПК (2006) C12N 15/82, A01N 5/00, C12N 5/14, C12N

15/40. Спосіб надання рослині цукрового буряка резистентності до вірусу некротичного пожовтіння жилок буряка (BNYVV) та рослини, одержані цим способом. / К. Річардз, Ж. Жонар, Ю. Гіллей, М. П. ван Дюн Корнеліс; Заявка (PCT) №2001085927; 26.01.2000; Опубл. 17.12.2001.

5. Патент України №29953, 11.02.2008, МПК (2006) A01N 63/00, A01N 65/00, A01P 1/00, A01P 3/00. Спосіб підвищення стійкості рослин до хвороб. / Л. Ф. Горючий, І. І. Кошевський, В. В. Редько, В. В. Теслюк (UA); Заявка № u200702093; 27.02.2007; дата набрання чинності 10.02.2008.

6. Патент України №68663, 16.08.2004, МПК A01N 63/00 A01P 3/00, A01C 1/06, A01C 1/08 (2007/01). Спосіб підвищення стійкості рослин томатів до хвороб. / Г. Ю. Перковська, В. Г. Сергієнко, В. М. Охрімчук, А. І. Дяченко, О. П. Дмитрієв; Заявка №2003098665.

7. Патент України №78555, 10.04.2007, МПК (2006) A01 43/653, A01N37/36, A01N37/50, A01N 43/40, A01N 43/54, A01N 43/56, A01N 47/24, A01P1/00. Спосіб імунізації рослин проти бактеріо-

зу та застосовані сполуки. / Г. Штамплер (DE), У. Конрат (DE), Х. Кьоле (DE), Ш. Хермс (DE), Т. Шлундт (US), Н. Джонсон (US); Заявка (PCT) №20041008152, 10.03.2003; Опубл. 15.11.2004; дата набрання чинності 10.04.2007.

8. Патент України №39193, 15.06.2001, МПК (2006) C07D 231/00, C07F 13/00, A01P 15/00, A01 N 43/40 (2007/01). Засіб для підвищення продуктивності та стійкості тютюну до вірусних захворювань. / П. Г. Дульнев, Н. С. Рябчук, Г. І. Вілєсов, О. Д. Калкей (UA); Заявка №95073389, 19.07.1995; Опубл. 30.04.1998.

9. Sudhakar N., Nahendra-Prasad D., Mohan N., Murugesan K. Induction of systemic resistance in *Lycopersicon esculentum* cv. PKM1 (tomato) against Cucumber mosaic virus by using ozone // J. Virol. Methods. - 2007. - 139, №1. - P.71-77.

10. А. с. 1088169 СССР. МКИ А 61 К 31/175 / Потопальский А. И., Лозюк Л. В., Бессарабов Б. Ф., Миролубива А. Н., Алексеенко А. Я., Кит В. И. Открытия, изобретения, 1984. - №15.

11. Болсунова О. І. Імуномодуючі властивості противірусного препарату ізатизон. - Автореферат канд. дис. - Київ, 2004. - 16с.

12. Заика Л. А., Болсунова О. И., Пацковский Ю. В., Рубашевский Е. Л., Дедюн С. Т., Рыбалко С. Л., Потопальский А. И. Антивирусный препарат изатизон не обладает мутагенным действием и стимулирует пролиферацию клеток иммунной системы // Биополимеры и клетка. - 1995. - Т. 11, №6. - С.89-95.

13. Лозюк Л. В., Потопальский А. И., Лозюк Р. М. Медикаментозная терапия и профилактика вирусных заболеваний. - Львов: Норма, 2003. - 208с.