



УКРАЇНА

(19) UA (11) 41723 (13) U
(51) МПК (2009)
A01N 63/00
A01C 1/06

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИКОРИСТАННЯ РОСЛИННИХ ЛЕКТИНІВ ДЛЯ ЗАХИСТУ ОВОЧЕВИХ КУЛЬТУР ВІД ХВОРОБ

1

2

(21) u200812612

(22) 28.10.2008

(24) 10.06.2009

(46) 10.06.2009, Бюл.№ 11, 2009 р.

(72) СЕРГІЄНКО ВАЛЕНТИНА ГРИГОРІВНА, UA,
КИРИЧЕНКО ОЛЕНА ВАСИЛІВНА, UA, ПЕРКОВ-
СЬКА ГАЛИНА ЮРІЇВНА, UA

(73) ІНСТИТУТ ЗАХИСТУ РОСЛИН УКРАЇНСЬКОЇ
АКАДЕМІЇ АГРАРНИХ НАУК, UA

(57) Спосіб використання рослинних лектинів для захисту овочевих культур від хвороб, який характеризується тим, що для захисту овочевих культур від грибкових захворювань (фітофторозу, альтернаріозу, несправжньої борошнистої роси) застосовують розчини лектину пшениці (аглютиніну зародків пшениці) та лектину насіння сої в концентраціях 5мкг/мл (0,0005%) або 10мкг/мл (0,001%) методом обприскування рослин в період вегетації.

Корисна модель відноситься до сільського господарства, зокрема, до способів захисту овочевих культур (томати, огірок) від грибних захворювань.

Широке застосування в практиці сільського господарства хімічних засобів захисту рослин призводить до забруднення продукції рослинництва та навколишнього середовища. У зв'язку з цим, одним із актуальних напрямів сільськогосподарської біотехнології є пошук альтернативних хімічним засобам захисту, екологічно безпечних шляхів обмеження розвитку хвороб у культурних рослин. Перспективними в цьому плані є біологічні методи активізації імунітету та захисту рослин (1), насамперед, використання біологічно активних речовин, джерелом отримання яких можуть бути рослини, мікроорганізми, тварини, гриби (2, 3). Такими речовинами є мікробні полісахариди ксантан і поліміксан, що використовуються для передпосівної обробки насіння овочевих культур або обприскування рослин по вегетації і забезпечують зниження грибкових захворювань та пестицидного навантаження на рослини і ґрунт (2).

До таких препаратів також належать Хітозан та Імуноцитофит. Хітозан одержують шляхом обробки природного хітину концентрованими лугами і застосовують як імуностимулятор злакових куль-

тур (4) або як компонент комплексних препаратів ристрегуляторної дії, який забезпечує зниження їхньої токсичності (5, 6). Імуноцитофит, основу якого складає етиловий ефір арахідонової кислоти (Агропромислова компанія "Гінкго", товарне свідоцтво №152966 від 28.05.1997): використовується для стимулювання природного імунітету та регулювання росту і розвитку основних сільськогосподарських культур (7).

До групи речовин рослинного походження, що здатні пригнічувати ріст фітопатогенних грибів, бактерій, актиноміцетів, знижувати активність їх екзогенних метаболітів, які задіяні в патогенезі, відносять лектини рослин (3, 8-10). Лектини - білки (або глікопротеїни), які об'єднані за біохімічною властивістю, а саме, здатністю зв'язувати вуглеводи і вуглеводні детермінанти глікозилізованих біополімерів, не викликаючи їх хімічних перетворень (11, 12). Універсальність лектинів включає їхнє широке розповсюдження в природі та спектр біоефекторних властивостей за відношенням до про- і еукаріот.

Про використання рослинних лектинів з метою захисту овочевих культур від хвороб відомостей в патентній літературі не знайдено.

Метою даної корисної моделі є обмеження ураженості овочевих культур (томати, огірок) хво-

UA (19) 41723 (13) U

робами, що викликаються фітопатогенними грибами (*Altemaria*, *Phytophthora*, *Pseudoperonospora*) та підвищення їхньої продуктивності за рахунок використання природної рослинної біологічно активної сполуки. Завдання вирішуються методом обробки рослин (обприскування) в період вегетації розчином рослинного лектину.

Спосіб (корисна модель), що заявляється, має наукову новизну, оскільки передбачає застосування розчинів лектину пшениці (аглютиніну зародків пшениці) та сої (лектин насіння сої) в концентраціях 5 або 10 мг/мл (відповідно 0,0005 або 0,001 %) проти хвороб овочевих культур (альтернаріоз, фітофтороз, несправжня борошниста роса) в період їх вегетації.

Ефективність захисної дії лектинів оцінювали в лабораторно-вегетаційних і польових умовах, порівнюючи їх вплив із дією відомих імуностимуляторів і регуляторів росту рослин (Хітозан, Імуноцитофіт) і хімічного фунгіцида системно-контактної дії Ридоміл Голд МЦ 68WG, які використовували відповідно в концентраціях 0,01%, 0,02%, 0,4%. У вегетаційних дослідженнях застосовували розчини препаратів у нормі 10мл/рослину, в польових умовах - 500л/га (50мл/м²).

Приклад 1

Вивчення захисного ефекту дії лектину пшениці проти фітофторозу томатів.

Вивчення захисного ефекту лектину пшениці проти фітофторозу томатів проводили в умовах лабораторно-вегетаційного дослідження. Спочатку рослини томатів сорту Іскорка в теплиці обприскували розчином лектину пшениці (5мг/мл), а потім через добу після обробки відбирали листки і проводили штучне зараження їх в лабораторних умовах су-

спензією зооспорангіїв збудника фітофторозу *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary за концентрації 10⁵ спор/мл.

Обробку рослин препаратами проводили тричі в основні фази розвитку:

бутонізації-початку цвітіння (I), початку плодоутворення (II), плодоношення (III). Рослини вирощували до урожаю.

Облік ураження листків патогеном проводили на 5-й день після зараження. Ефективність захисної дії препаратів розраховували за формулою Еббота (13). Урожай підраховували при зборі плодів з кожної рослини, які були в досліді.

Як видно з даних таблиці 1, при використанні лектину гальмувався розвиток фітофторозу протягом вегетації рослин на 78,6; 33,3 та 12,5%. Максимальна ефективність захисної дії лектину, яка знаходилась на рівні дії фунгіциду, відмічена у фазу бутонізації-початку цвітіння рослин. У подальшому, захисний ефект дії лектину знижувався, так само як і інших препаратів.

Очевидно, із збільшенням віку рослин здатність їх до активізації захисних реакцій знижується. Рослини раннього віку є більш чутливими до дії препаратів, які сприяють підвищенню імунного статусу на ранніх етапах онтогенезу. Тому ефективність препаратів за обробки рослин більш раннього віку в більшості випадків є значно вищою, ніж за обробки рослин старшого віку.

У порівнянні з Імуноцитофітом лектин більш ефективно пригнічував розвиток фітофторозу: ефективність захисної дії лектину перевищувала ефективність дії Імуноцитофіту протягом вегетації рослин в 3,7, 2,7 та 3,1 рази відповідно (табл. 1).

Таблиця 1

Вплив природних і синтетичних препаратів на розвиток фітофторозу томатів сорту Іскорка

Варіант	Ступінь розвитку хвороби		Ефективність дії препарату
	%	% до контролю	%
	Фаза бутонізації		
Вода (контроль)	70,0	100	-
Лектин пшениці	15,0	21	78,6
Імуноцитофіт (еталон)	55,0	76	21,4
Фунгіцид (еталон)	10,0	14	85,7
HIP _{0,05}	5,0		
	Фаза цвітіння		
Вода (контроль)	96,0	100	-
Лектин пшениці	64,0	67	33,3
Імуноцитофіт (еталон)	84,0	88	12,5
Фунгіцид (еталон)	28,0	29	70,8
HIP _{0,05}	6,8		
	Фаза плодоношення		
Вода (контроль)	96,0	100	-
Лектин пшениці	84,0	88	12,5
Імуноцитофіт (еталон)	92,0	96	4,2
Фунгіцид (еталон)	32,0	33	66,7
HIP _{0,05}	4,6		

Таблиця 2

Вплив речовин захисної дії на урожай томатів сорту Іскорка

Варіант	Урожай з однієї посудини по повторностям, г			Середній урожай з посудини	
	I	II	III	г	% до контролю
Вода (контроль)	374,4	388,1	372,3	380,2±6,6	100
Лектин пшениці	530,1	529,2	524,9	528,1±1,4	139
Імуноцитифіт (еталон)	517,4	516,9	520,9	518,4±1,1	136
Фунгіцид (еталон)	334,3	342,4	341,6	339,5±2,6	89

Встановлено (табл. 2), що при обприскуванні рослин пектином та Імуноцитифітом урожай томатів в умовах вегетаційного дослідів збільшувався на 39 і 36% відповідно у порівнянні з контролем (обприскування водою). При використанні фунгіциду відмічено деяке зниження урожаю плодів, що може бути пов'язане з пригніченням фізіологічних процесів рослин в умовах закритого ґрунту під впливом діючих речовин, що входять до складу фунгіциду.

Приклад 2

Вивчення захисного ефекту лектинів пшениці та сої проти альтернаріозу томатів.

Польові досліді проводили на природному інфекційному фоні. Домінуючою хворобою томатів була суха плямистість або альтернаріоз. На сорті Амико фітофтороз був зовсім відсутнім, а на сорті Флора наприкінці вегетації деяка частина плодів була уражена фітофторозом.

Перші ознаки ураження томатів сухою плямистістю було відмічено у фазу бутонізації рослин, коли розвиток хвороби у контрольному варіанті складав 6,2% (2002 рік) і 24,5% (2003 рік) (табл. 3). Для обприскування томатів сорту Амико використовували лектин сої (5мкг/мл) у фази: I - бутонізації-початку цвітіння (4.07.02.), II - початку утворення плодів (18.07.02), III - плодоношення (26.07.02), сорту Флора - лектин пшениці (5мкг/мл) у фази: I - бутонізації-початку цвітіння (18.07.03), II - утворення плодів (25.07.03). Збір урожаю плодів томатів проводили протягом усього періоду дозрівання. Оцінювали урожай шляхом зважування здорових плодів з кожної облікової ділянки.

Показано (табл. 3), що використання рослинних лектинів пригнічувало розвиток хвороби рослин на 36, 68 і 20% (сорт Амико) та 24, 11 і 15% (сорт Флора). Із збільшенням віку рослин і підвищенням ступеня розвитку хвороби ефективність дії всіх досліджуваних препаратів знижувалась.

Слід зазначити, що лектини проявляли захисний ефект в значно нижчій концентрації (5мкг/мл або 0,0005%) на відміну від Імуноцитифіту, Хітозану та синтетичного фунгіциду Ридоміл Голд МЦ 68WG, робоча концентрація яких складала відповідно 0,02%, 0,01% і 0,4%.

В польових умовах приріст урожаю томатів сорту Флора (високопродуктивний сорт) при застосуванні рослинного лектину, Імуноцитифіту та фунгіциду становив відповідно 28, 55 та 25ц/га (табл. 3). Відмічено зниження ураження плодів альтернаріозом (на 48-62%) і фітофторозом (на 46-89%) в усіх дослідних варіантах порівняно до контролю.

Урожайність томатів сорту Амико (низкопродуктивний сорт) при застосуванні пектинової обробки знаходилась на рівні варіанту з використанням Хітозану та в 1,8 рази перевищувала контрольний показник. Порівняно до варіантів із використанням Імуноцитифіту та фунгіциду Ридоміл Голд МЦ урожай плодів був в 1,3 та 1,2 рази вищим. Ступінь ураження плодів даного сорту не оцінювали.

Приклад 3

Дослідження захисної дії лектину пшениці проти несправжньої борошнистої роси огірка.

У польових умовах (Сквирська дослідна станція. Київська обл.) проводили обприскування рослин огірка сорту Конкурент розчинами лектину пшениці в концентраціях 5 (0,0005%) і 10 (0,001%) мкг/мл у фази розвитку: I - п'яти справжніх листків (09.07.02), II - цвітіння (24.07.02.) і III - плодоношення (6.08.02). Початок несправжньої борошнистої роси огірка був зафіксований у фазу п'яти справжніх листків: в цей період розвиток хвороби в контрольному варіанті становив 3,5% (табл. 4).

Обприскування рослин огірка розчинами лектинів сприяли зниженню ураженості їх хворобою. Значно нижчим ступенем розвитку хвороби характеризувався лектин в концентрації 10мкг/мл. З даних таблиці 4 видно, що ефективність обробки рослин розчинами лектину пшениці в концентраціях 5 і 10мкг/мл становила в середньому 31% і 43% та була вищою за ефективність дії препаратів Імуноцитифіт і Хітозан.

Приріст урожаю плодів огірка в даних варіантах становив 27% і 32% та дещо перевищував урожай, отриманий в інших варіантах дослідів.

Отже, максимальною ефективністю за досліджуваними показниками (захисна дія, урожайність плодів) характеризувався лектин пшениці в концентрації 10мкг/мл, або 0,001%.

Необхідно відмітити, що лектин пшениці використовували в значно менших (в 10 - 4000 раз) концентраціях, ніж інші біологічні та синтетичні препарати.

Таким чином, при екзогенній обробці (обприскування) рослин томатів і огірків в період вегетації, рослинні лектини обмежують розвиток грибних захворювань, а саме, фітофторозу і альтернаріозу томатів та несправжньої борошнистої роси огірка. Максимальну захисну дію рослинних лектинів виявлено в ранньому віці рослин і на ранніх етапах розвитку хвороб. Застосування рослинних лектинів на овочевих культурах сприяє також підвищенню їх урожайності.

Отже, використання рослинних лектинів як біологічних агентів є новим і перспективним техні-

чним рішенням у розробці екологічно безпечних методів захисту овочевих культур.

Таблиця 3

Ефективність застосування препаратів проти альтернаріозу томатів
(Київська ДС, смт Борова, Фастівський р-н. Київська обл.)

Варіант	Розвиток хвороби, %			Ефективність дії препара- ту, %			Урожайність		Ураженість плодів, %	
	Фаза розвитку рослин						ц/га	%	альтернаріозфітофтороз	
	I	II	III	I	II	III				
	Сорт Аміко (2002р.)									
Вода(контроль)	6,2	15,5	34,2	-	-	-	72,2	100		
Лектин сої	4,0	5,0	27,5	35,5	67,7	19,6	126,0	175		
Імуноцитопіт (ета- лон)	2,7	5,8	22,5	56,5	62,6	34,2	100,0	138		
Хітозан (еталон)	4,5	10,5	28,0	27,4	32,2	18,1	138,8	177		
Ридоміл Голд МЦ68 WG (еталон)	2,0	7,5	25,0	67,7	51,6	26,9	108,0	150		
HIP _{0,05}	1,3	3,2	3,4	-	-	-	11,7	-		
	Сорт Флора (2003р.)									
Вода (контроль)	24,5	47,2	51,1	-	-	-	490,0	100	9,5	11,3
Лектин пшениці	18,7	42,2	43,3	23,7	10,6	15,3	518,0	106	3,6	1,2
Імуноцитопіт (ета- лон)	15,6	35,0	40,8	36,3	25,9	20,2	545,0	111	5,0	3,8
Ридоміл Голд МЦ68 WG (еталон)	14,4	30,0	35,5	41,2	36,4	34,8	515,5	105	4,5	6,1
HIP _{0,05}	2,5	3,8	4,3	-	-	-	12,8	-	-	-

Таблиця 4

Ефективність застосування лектину пшениці проти несправжньої борошнистої роси огірка сорту Конкурент
(Скви́рська ДС, м. Сквир, Київська обл.)

Варіант	Розвиток хвороби, %			Ефективність захисної дії препарату, %			Урожайність		
	I	II	III	I	II	III	ц/га	+ц/га	+%
Контроль	3,5	66,7	80,0	-	-	-	123,2	-	-
Лектин, 5мкг/мл	2,2	49,0	61,0	37,1	32,5	23,8	156,7	+33,5	+27
Лектин, 10мкг/мл	1,2	40,5	61,0	65,7	39,3	23,8	162,8	+39,5	+32
Хітозан, 0,01% (еталон)	1,6	45,0	60,5	54,3	32,5	24,4	153,5	+30,3	+25
Імуноцитопіт, 0,02% (еталон)	1,9	53,0	72,0	45,7	20,5	10,0	145,2	+22,0	+18
Ридоміл Голд Мц 68WG, 0,4% (еталон)	0,5	36,0	50,0	85,7	46,0	37,5	151,2	+28,0	+23
HIP _{0,05}	1,4	4,3	4,8	-	-	-	19,5	-	-

Джерела інформації

1. Озерецковская О. Л. Проблемы специфического фитоиммунитета // Физиология растений. 2002. Т.49, №1. С.1-7.

2. Karavaev V.A., Solntsev M.K., Kuznetsov A.M., Polyakova I.B., Frantsev V.V., Yurina E.V., Yurina T.P. Plant extracts as the source of physiologically active compounds suppressing the development of pathogenic fungus // Plant Prot. Sci. 2002. V. 38, Spec. Issue 1. P.200-204.

3. Способ для защиты овощных культур. Авт. свид. SU 18117668 A1, 30.04.93, бюл. №6. Воцелко С.К., Гвоздяк Р.И., Данилова Л.К. и др.

4. Способ предпосевной обработки семян злаковых культур. Патент США №4886541 A01N43/16, 12.02.1989.

5. Регулятор роста растений. Патент України №48682 A01N43/16, 15.08.2002, бюл. №8. Фінько С.В.

6. Регулятор роста растений. Патент України №48761 A01N43/16, C08L5/08, 15.08.2002, бюл. №8. Фінько С.В.

7. Кульнев А.И., Соколова Е.А. Многоцелевые стимуляторы защитных реакций, роста и развития растений. Пуццо: Гинкго, 1997. - 100с.

8. Peumans W.J., Van Damme E.J.M. Lectins as a plant defense proteins // Plant Physiol. 1995. V. 109. P. 347-352.

9. Сотченков Д.В., Голденкова И.В. Антимикробные белки и пептиды, участвующие в защите растений от грибных и бактериальных патогенов // Успехи соврем, биол. 2003. Т123, №4. С.323 - 335.

10. Khurtsidze M., Lomtadze Z., Shiukoshvili T., Alexidze G., Alexidze N. The impact of plant seed protein fraction with lectin activity on multiplication of bacteria and actinomyces // Bull. Georg. Acad. Sci. 2000. V.162, N3. P.552 -

11. Rudiger, H., Gabius H.-J. Plant lectins: Occurrence, biochemistry, functions and applications // Glycoconjugate J., 2001. V.18. P.589-613.

12. Komath S. S., Kavitha M., Swamy M. J. Beyond carbohydrate binding: new directions in plant lectin research // Org. Biomol. Chem., 2006. V.4. P.973-988. 13. Голышин Н.М. Фунгициды в сельском хозяйстве. М.: Колос, 1974. 184с.