



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **103398** (13) **C2**
(51) МПК (2013.01)
A01N 35/08 (2006.01)
A01N 35/06 (2006.01)
A01P 23/00

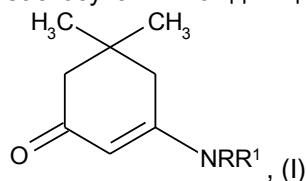
ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки: а 2012 00478	(72) Винахідник(и): Хохлова Тетяна Віталіївна (UA), Присяник Олександр Васильович (UA), Бурмістр Михайло Васильович (UA)
(22) Дата подання заявки: 16.01.2012	(73) Власник(и): ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД "УКРАЇНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ХІМІКО-ТЕХНОЛОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ", пр. Гагаріна, 8, м. Дніпропетровськ, 49005 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 10.10.2013	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: Критенко С.П., титов А.Ф. Влияние абсцизовой кислоты и цитокинина на синтез белка при холодной и тепловой адаптации растений // Физиология растений. - 1990. - Т. 37, № 1. - С. 126-132 UA 11677 A1, 25.12.1996 UA 11664 A1, 25.12.1996 EP 0371882 A2, 06.06.1990
(41) Публікація відомостей про заявку: 25.01.2013, Бюл.№ 2	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.10.2013, Бюл.№ 19	

(54) ЗАСТОСУВАННЯ ПОХІДНИХ ДЕГІДРОАМІНОКИСЛОТ ЯК ЗАСОБІВ, ЩО ПІДВИЩУЮТЬ МОРОЗО- І ХОЛОДОСТІЙКІСТЬ РОСЛИН**(57) Реферат:**

Застосування похідних дегідроамінокислот загальної формули



сполуки 1-2,

де 1) R=R¹=H; 2) R=H; R¹=CH₂CH₂OH,

як засобів, що підвищують морозо- і холодостійкість рослин.

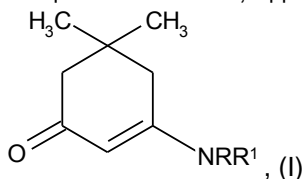
Галузь застосування - сільське господарство; засоби, що захищають рослини від несприятливих умов зростання.

Задача вирішується шляхом застосування N-заміщених 3-аміно-5,5-диметилциклогекс-2-ен-1-ону загальної формули (I), які за механізмом дії є промоторами біосинтезу природних фітогормонів. Передпосівна обробка насіння водними розчинами цих препаратів у концентраціях 10-1000 мг/л сприяє зниженню фізичного стресу рослин при негативних температурах і зменшує залежність рослинництва від погодних умов навколишнього середовища.

UA 103398 C2

Винахід дозволяє підвищити врожайність сільськогосподарських культур за рахунок раннього посіву і захисту таких посівів від холоду і заморозків. Спосіб обробки - інкрустація або напіввологий.

Винахід належить до біологічно активних сполук класу похідних дегідроамінокислот, а саме N-заміщених 3-аміно-5,5-диметилциклогекс-2-ен-1-ону загальною формули



сполуки 1-2,
де 1) $R=R^1=H$; 2) $R=H$; $R^1=CH_2CH_2OH$,

які сприяють підвищенню морозо- і холодостійкості рослин. Галузь застосування - сільське господарство; засоби, що захищають рослини від несприятливих умов зростання.

Застосовуються різні способи підвищення холодостійкості рослин: оптимізація мінерального живлення, загартовування рослин і насіння, обробка посівів і насіння речовинами, що підвищують їх холодостійкість.

Згідно з теорією загартовування, рослинам для набуття морозостійкості потрібно пройти три етапи підготовки: перехід у стан спокою, першу і другу фази загартовування. Вступ у стан спокою без наступних етапів незначно підвищує морозовитривалість. Перехід у стан спокою супроводжується зміщенням балансу фітогормонів у бік зменшення вмісту ауксинів і гіберелінів і збільшення вмісту абсцизової кислоти (АБК), а обробка рослин у цей період інгібіторами росту (хлорхолінхлоридом або трийодбензойною кислотою) підвищує стійкість рослин до низьких температур [Полевой, В.В. Физиология растений [Текст]: учеб.для биол.спец.вузов/ В.В.Полевой - М.: Высш. шк., 1989.-464с.].

Як препарати, що підвищують холодостійкість рослин, запропоновані кінетин, який знижує стрес цитокінінового типу (Зауралов, О.А. Определение эффективности регуляторов роста для повышения холодоустойчивости теплолюбивых растений [Текст] / О.А. Зауралов //Агрохимия.- 1997.-№2. -С.71-75) та тидіазурон [N-феніл-N'-(1,2,3-тіадіазол-5-іл)сечовина] (Патент №2195809 РФ, МПК А01G7/00, А01N47/36. Средство для повышения холодоустойчивости растений/ Пугаев СВ. и др. -№2000101798/13, заявл. 24.01.00, опубл. 10.01.03).

Недоліками цих препаратів є низька розчинність у воді, високі концентрації робочих розчинів та їх вартість.

Відоме використання як стимуляторів росту і кріопротекторів кремнієорганічних сполук - акрилоксисиланів (акрисил) (Пат. №2085076 РФ, МПК А01N55/10. Стимулятор роста растений и кріопротектор / Корзинников Ю.С. и др. - № 92005361/04, заявл. 10.11.92, опубл. 27.07.97) та хлорметилметилдиетоксисилана (Пат. №2081582 РФ, МПК А01N55/10. Средство повышения зимоморозостойкости растений / Корзинников Ю.С. и др. - № 93005453/13, заявл. 01.02.93, опубл. 20.06.97), а також комплексних препаратів на основі поліетиленоксидів (Дьяконенко, Г.Ю. Мітотична активність у проростках озимих культур після передпосівної обробки насіння агрохімічними препаратами на основі кріопротекторів [Текст]/ Г.Ю. Дьяконенко, А.М. Компанієць // Физиология растений.-2009. - Вип.10, №878.-С. 138-141). Відоме використання препарату Епін Екстра (епібрасінолід - синтетичного аналога природного фітогормону (Будыкина Н.П. Изменение холодоустойчивости растений при обработке препаратом ЭПИН_{екстра} в зависимости от зонального действия температуры [Текст]/ Н.П. Будыкина, Т.Ф. Алексеева, Н.И.Хилков// Современная физиология растений: от молекул до экосистем: материалы докладов международной конференции (в трех частях.). 4.2. Стресс, адаптация и выживание растений. - Сыктывкар, 2007.-470с.). Недоліком цього класу сполук є висока вартість, неприпустимість використання лужних розчинів.

Найбільш вивчено застосування АБК як засобу підвищення стійкості рослин до дій низьких температур [Критенко, С.П. Влияние абсцизовой кислоты и цитокинина на синтез белка при холодовой и тепловой адаптации растений [Текст]/ С.П. Критенко, А.Ф. Титов // Физиология растений.-1990.- Т. 37, №1. - С.126-132]. Абсцизова кислота, яка є одним з фітогормонів має важливе значення в адаптації рослин до стресів навколишнього середовища, таких як посуха, холод, зміна сольового балансу, так як регулює їх ріст та розвиток. Физиологічна дія включає індукцію спокою, приглушення проростання, приглушення цвітіння, приглушення виходу в стрілку (розвитку квітконіжки), активацію старіння і опір стресу (наприклад, посилення холодостійкості). Відомо застосування АБК як кріопротектора, вивчено її вплив на холодове і теплове загартовування рослин, а саме на стійкість до холоду і тепла незагартованих рослин. Встановлено, що при загартовуванні рослин вміст ендогенної абсцизової кислоти значно зростає. Наприклад, при загартовуванні здатного до холодової адаптації картоплі виду *Solarium commersonii* вміст ендогенної АБК зростає в 2,5 разу [Chen, H.H. Involvement of abscisic acid in potato cold acclimation [Text] /H.H. Chen, P.H. Ц M.L Brenner// Plant Physiol.-1983. -Vol. 71, № 2. -

P. 362-365; Ryu, Stephen, B. Potato cold hardiness development and abscisic acid. I. Conjugated abscisic acid is not the source of the increase in free abscisic acid during potato (*Solanum commersonii*) cold acclimation [Text]/ Stephen B. Ryu, Paul H. Li // *Physiologia Plantarum*.-1994.- Vol.90. - P.15-20]. У мутанта арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana*) з низьким вмістом ендогенної АБК у порівнянні з диким типом була відсутня або різко знижена здатність до холодової адаптації [Gilmour, S.J. Cold acclimation and cold-regulated gene expression in ABA mutants of *Arabidopsis thaliana* [Text]/ S.J. Gilmour, M.F. Thomashow // *Plant and Mol. Biol.*-1991. -Vol. 17, № 1.- P. 1233-1240;]. В той же час екзогенна обробка цього мутанта АБК приводила до появи ефекту адаптації рослин до холоду [Heino, P., Sandman G., Lang V. Abscisic acid deficiency prevents development of freezing tolerance in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh [Text]/ P.Heino, G. Sandman, V. Lang.// *Theor. and Appl. Genet.*-1990.-V. 79. - P. 801-806; Mantyla, E. Role of Abscisic Acid in Drought-Induced Freezing Tolerance, Cold Acclimation, and Accumulation of LT178 and RAB18 Proteins in *Arabidopsis thaliana* [Text] / E. Mantyla, V. Lang, and E. T. Palva // *Plant Physiol.*-1995. - Vol. 107, №1.- P.141-148]. При цьому був показаний взаємозв'язок між експресією регульованих холодом і регульованих абсцизовою кислотою генів [Koornneef M., Hanhart C.J., Hilhorst H. W.M., Karssen CM. In vivo inhibition of seed development and reserve protein accumulation in recombinants of abscisic acid biosynthesis and responsiveness mutants of *Arabidopsis thaliana* // *Plant Physiol.* 1989. V. 90, N 2. P. 463-469]. Аналогічні результати були одержані і при вивченні інших видів рослин. Таким чином, абсцизова кислота має важливе значення у регуляції холодо- і морозовитривалості рослин.

Розроблені способи одержання АБК синтетичним шляхом, але вони пов'язані зі складністю технології її одержання: багатостадійність процесу, стереоспецифічність, висока вартість. Сумарний вихід кінцевого продукту не перевищує 25 % [Mauricio Gomes Constantino. A novel synthesis of (+-)-abscisic acid [Text] /Mauricio Gomes Constantino, Pellegrino Losco, E. E. Castellano// *J. Org. Chem.*-1989.- Vol. 54, №3. - P.681-683]; Hanson. James R. An efficient synthesis of the plant hormone abscisic acid [Text]/ Hanson. James R., Uyanik Cavit // *J.Chem. Res.*-2003. - №7-P.426-427].

Недоліком застосування АБК в рослинництві є використання лужних розчинів, у зв'язку з тим, що вона погано розчиняється у воді, а також складність технології її одержання і висока вартість.

В основу винаходу поставлена задача розширення асортименту сполук, що здатні захищати рослини від дії низьких температур. При застосуванні цих хімічних препаратів підвищується схожість насіння, збільшується кількість і якість рослин, що перезимували у польових умовах і, відповідно, врожайність.

Задача вирішується шляхом застосування N-заміщених 3-аміно-5,5-диметилциклогекс-2-ен-1-ону загальної формули (I), які за механізмом дії є промоторами біосинтезу природних фітогормонів. Передпосівна обробка насіння водними розчинами цих препаратів у концентраціях 10-1000 мг/л сприяє зниженню фізичного стресу рослин при негативних температурах і зменшує залежність рослинництва від погодних умов навколишнього середовища.

Як регулятори росту рослин використовують N-заміщені 3-аміно-5,5-диметилциклогекс-2-ен-1-ону, які одержують конденсацією димедону з відповідними амінами:

3-аміно-5,5-диметилциклогекс-2-ен-1он (препарат 1) (Пат. 11677 Україна, МПК A01N 33/04, A01N 43/4H, A01P 21/00. Регулятор росту рослин люцерни / Просяник О.В. та інші. - № 4769382/SU, заявл. 20.10.89; опубл. 25.12.96. Бюл. № 4);

3-(β -оксіетиламіно)-5,5-диметилциклогекс-2-ен-1он (препарат 2) (Пат. 11664 Україна, МПК C07C 225/00, A01N 33/08, A01P 21/00. N-заміщені 3-аміно-5,5-диметилциклогекс-2-ен-1-ону як стимуляторів росту при пророщенні насіння цукрового буряка/ Просяник О.В. та інші.- 4751850/SU, заявл. 20.10.89; опубл. 25.12.96. Бюл. № 4).

Винахід ілюструється наступними прикладами.

Приклад 1. Вивчення впливу препаратів на схожість і ефективність проростання насіння огірків сорту "Конкурент".

Методика досліджу. Насіння огірків сорту "Конкурент" у кількості 25 штук замочують на 18-20 годин в розчинах препаратів 1-2 концентрацією 1 мг/л. Потім розкладають у чашки Петрі і ставлять в холодильну камеру при температурі нижче біологічного мінімуму. На відповідний день згідно з Міжнародними правилами аналізу насіння визначають схожість. Далі насіння витримують при температурі біологічного оптимуму і в відповідні строки аналізують схожість. Результати дослідів наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Вплив препаратів на схожість насіння огірків сорту "Конкурент"

Варіант досліджу	Температура проростання									
	8 °C		10 °C		25 °C					
	кількість	%	кількість	%	на 3 день		на 6	день	на 16 день	
Препарат 1	0	0	0,6	2,6	12,1	48,4	20,7	82,7	21,0	84,0
Препарат 2	0	0	0,5	2,0	12,0	48,0	19,3	77,3	20,7	82,7
АБК	0	0	0,8	3,2	7,0	28,0	19,2	76,8	20,5	82,0
Контроль	0	0	0,4	1,6	2,0	8,0	16,3	65,2	16,0	64,0

Таким чином, в результаті попереднього холодого загартовування насіння огірків сорту "Конкурент" спостерігається підвищення польової схожості на 30-40 % у порівнянні з контролем. Крім того, при подальшій культивуванні тенденція перевищення контролю зберігається.

- 5 Приклад 2. Вивчення впливу препаратів на збільшення врожайності кукурудзи при ранніх строках посіву.

Методика експерименту. Дослід закладено методом рандомізованих блоків. Повторність - чотириразова, площа ділянки 10 м².

- 10 Препаратами 1 і 2 обробляють насіння кукурудзи середньостиглого гібриду "Ювілейний 60". Препарати наносять на насіння напіввологим методом (п.в.) і інкрустацією (і). Плівкоутворювач - 2 % розчин NaKМЦ. Концентрація робочих розчинів (1мг/л). Результати дослідів наведені в таблиці 2.

Таблиця 2

Вплив препаратів на врожайність кукурудзи сорту "Ювілейний 60"

Варіант досліджу	Врожайність			Густота	стояння
	ц/га	%до контролю	тис/га		%до контролю
АБК	82,8	100	34500		100
Препарат 1	102,3	123,6	42800		124,0
Препарат 2	104,5	126,2	43200		125,2

- 15 При використанні препаратів 1 та 2 як засобів для підвищення холодостійкості рослин врожайність кукурудзи зростає на 25 ц/га.

Таким чином, що при ранніх строках посіву прибавка врожайності формується за рахунок густоти стояння рослин, що підтверджує ефект холодопротекції. Однак необхідно відзначити, що проявлення цього ефекту в великій мірі залежить від генотипу культури.

- 20 Приклад 3. Вивчення впливу препаратів на поліпшення посівних якостей сої при ранніх строках посіву (температура ґрунту + 8 °C).

Методика дослідів. Насіння сої сорту "Білосніжка"¹¹ перед посадкою обробляють водними розчинами препаратів напіввологим способом. Результати дослідів наведені в таблицях 3,4.

Таблиця 3

Вплив препаратів на польову схожість і густоту стояння сої сорту "Білосніжка"

Варіант досліджу	Конц. (ДВ, %).	Лабораторна схожість, %	Польова схожість, %	Густота стояння, шт/м	Тривалість вегетаційного періоду, днів
Препарат 1	0,001	99,2	75,0	48,5	124
	0,01	98,1	71,0	46,2	124
	0,1	97,8	68,6	39,5	124
Препарат 2	0,001	99,4	78	49,1	120
	0,01	8,5	74	47,2	120
	0,1	98,0	71	40,2	120
Контроль (без обробки)		96,2	66,3	44,0	135

Таблиця 4

Вплив препаратів на врожайність сої сорту "Білосніжка»

Варіант досліджу	Варіант обробки (конц. ДВ%)	Врожайність зерна		Кількість бобів на одну рослину		Кількість зерен на одній рослині		Маса зерна на одній рослині	
		ц/га	% до контролю	шт.	% до контролю	шт.	шт.	% до контролю	
Препарат 1	0,001	15,2	113,4	17,5	116,7	27,9	4,1	117,1	
	0,01	15,6	116,4	18,3	122,0	25,3	3,8	108,6	
	0,1	14,0	104,5	16,4	109,3	24,3	4,0	114,3	
Препарат 2	0,001	15,8	117,9	18,5	123,3	29,0	4,1	117,1	
	0,01	16,6	123,9	19,2	128,0	30,3	4,0	114,9	
	0,1	14,1	107,5	16,8	112,0	25,1	3,9	111,4	
Контроль (без обробки)		13,4	100	15,0	100	27,0	3,5	100	

Встановлено, що передпосівна обробка насіння сої препаратами при ранніх строках посіву дозволяє підвищити польову схожість до 10 %, що приводить до збільшення густоти стояння і, як наслідок, у цілому до збільшення врожайності на 15-30 %. Крім того, тривалість вегетаційного періоду скорочується на 11-15 днів.

Таким чином, виявлений ефект холодопротекторної дії препаратами 1 і 2 з наступним позитивним впливом на врожайність середньоранніх гібридів кукурудзи і сої при ранніх строках посіву.

Застосування даних препаратів шляхом передпосівної обробки насіння сприяє зниженню фізичного стресу рослин, який вони одержують при знижених температурах, і зменшує залежність рослинництва від погодних умов навколишнього середовища.

Винахід дозволяє підвищити врожайність сільськогосподарських культур за рахунок раннього посіву і захисту таких посівів від холоду і заморозків. Спосіб обробки - інкрустація або напіввологий.

Позитивний ефект досягається за рахунок підвищення стійкості ранніх сходів до впливу низьких температур, збільшення кількості і якості перезимованих у польових умовах рослин, що в цілому приводить до збільшення врожаю і скороченню строків вегетаційного періоду. Крім того, для овочевих культур, що вирощуються у закритих ґрунтах, застосування даних сполук дозволить прискорити ранні сходи та зменшити енергозатрати.

Ефективність дії винаходу встановлено при обробці водними розчинами препаратів насіння сої, кукурудзи і огірків.

Токсикологічні дослідження N-заміщених 3-аміно-5,5-диметилциклогекс-2-ен-1-ону показали, що сполуки даного класу при однократному надходженні в організм теплокровних належать до малотоксичних речовин.

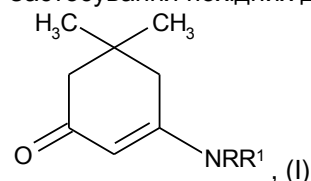
При вивченні гострої токсичності встановлено, що при однократному надходженні в організм теплокровних препарати є малотоксичними. ЛД₅₀ для мишей і пацюків становить > 1000 мл/кг.

У концентраціях нижче 10 % препарат не виявляє подразливої дії на шкіру і слизову оболонку ока.

Винахід має практичне значення і може бути застосований в сільському господарстві для захисту рослин від дії низьких температур.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

Застосування похідних дегідроамінокислот загальної формули



сполуки 1-2,
де 1) R=R¹=H; 2) R=H; R¹=CH₂CH₂OH,

як засобів, що підвищують морозо- і холодостійкість рослин.

Комп'ютерна верстка Л. Бурлак

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601