

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

Zveřejněná podle §31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

2017-5

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.:

C12N 1/14 (2006.01)
A01N 63/04 (2006.01)
A01C 1/06 (2006.01)
A01C 1/00 (2006.01)
A01N 3/00 (2006.01)
A01C 1/08 (2006.01)
C12R 1/885 (2006.01)

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **06.01.2017**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **07.02.2018**

(Věstník č. 6/2018)

(71) Přihlašovatel:
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích,
Zemědělská fakulta, České Budějovice, České
Budějovice 2, CZ

(72) Původce:
Ing. Andrea Bohatá, Ph.D., Plzeň, CZ
Mgr. Pavel Olšan, Tábor, CZ
Mgr. Zbyněk Havelka, Příbram, CZ
doc. RNDr. Petr Bartoš, Ph.D., Lišov, CZ
RNDr. Pavel Kříž, Ph.D., České Budějovice, CZ
prof. Ing. Vladislav Čurn, Ph.D., Dobrá Voda, CZ
prof. RNDr. Petr Špatenka, CSc., České
Budějovice, CZ

(74) Zástupce:
PatentCentrum Sedlák & Partners s.r.o., Husova 5,
370 01 České Budějovice

(54) Název přihlášky vynálezu:
**Způsob ošetření semen plazmatem a
kmenem houby *Trichoderma virens* TVI-
601-TACR**

(57) Anotace:
Způsob ošetření semen plazmatem a biopreparátem
zahrnuje ošetření semen v plazmovém výboji za
sníženého nebo atmosférického tlaku, dále zahrnuje
nanesení biopreparátu obsahujícího spory
mykoparazitického rodu hub *Trichoderma virens*
TVI-601-TACR (CCM 8732) na ošetřená semena, a
usušení semen, včetně jejich uskladnění.

CZ 2017 - 5 A3

Způsob ošetření semen plazmatem a biopreparátem *semem houby Trichoderma*
virens TVI-601-TACR

Oblast techniky

Vynález spadá do oblasti zemědělství a týká se ošetření semen tvořících osivo.

Dosavadní stav techniky

Od semen, která byla vybrána jako osivo, se očekává, že po jejich vysetí bude úspěšnost vyklíčení a vytvoření rostliny vysoká. Vliv na klíčivost semen a vývoj rostliny má celá řada faktorů, jako například druh rostliny, podmínky uskladnění osiva, choroboplodné zárodky přítomné na semenech, choroboplodné zárodky přítomné v půdě, škůdci, klimatické podmínky, vlhkost půdy, množství živin v půdě, atp.

Zatímco některé faktory ovlivňující klíčivost semen a vývoj rostliny jsou pevně dané, např. druh rostliny, jiné faktory lze ovlivnit, např. množství živin v půdě, nebo ochrana semen před choroboplodnými zárodky a škůdci.

Z českého patentového dokumentu CZ 233 410 (B1) je znám způsob ošetření semen plazmatem. Plazma je generováno elektrickým doutnavým výbojem a doba ošetření semen v plazmatu se pohybuje řádově v desítkách až stovkách sekund. Ošetření semen vede k ranější sklizni a k vyšším výnosům sklizně. Zlepšení klíčivosti je způsobeno modifikací fyzikálních vlastností povrchu semen při vystavení plazmatu, např. změnou smáčivosti.

V jiném známém patentovém dokumentu US 6 543 460 (B1) je prezentován způsob ošetření semen v nízkoteplotním plazmovém výboji. Úkolem ošetření je očištění povrchu semen, ze kterého jsou odstraněny nečistoty, jako např. zbytky pesticidů, fungicidů, insekticidů, a zároveň dojde ke sterilizaci povrchu semene odstraněním choroboplodných zárodků.

Nevýhody výše uvedených vynálezů spočívají v tom, že po vysetí jsou semena vystavena negativním vlivům přítomným v půdě, jako jsou choroboplodné zárodky a škůdci, vůči kterým nejsou semena chráněna.

Z dokumentu mezinárodní přihlášky vynálezu WO 9 107 869 (A1) je znám způsob ošetření semen pomocí moření. V rámci moření semen se semena potopí do mořidla, které obsahuje účinné složky, načež povrch semen přijme mořidlo včetně účinných látek. Po usušení semen obsahuje jejich povrch účinné látky, které chrání semena před škodlivými vlivy působícími v půdě. Příkladem účinné látky jsou např. spory hub, které lze nazvat jako biopreparát. Houby žijí na klíčícím semeni, či na částech rostoucí rostliny, přičemž vytváří nehostinné podmínky pro choroboplodné zárodky, či škůdce, aniž by negativně ovlivňovaly zdraví rostliny.

Nevýhody výše uvedeného vynálezu spočívají v tom, že moření semen je komplikované, neboť jsou semena v rámci moření vlhčena. Pokud jsou semena nevhodně sušena, může dojít k započetí fáze klíčení, nebo vlivem vlhkosti ke zkáze semen jiným způsobem. Napouštění aktivních látek do povrchu semen vyžaduje čas, neboť je povrch znečištěn, či má nevýhodné parametry smáčivosti.

Úkolem vynálezu je vytvoření způsobu ošetření semen plazmatem a novým účinným biopreparátem, který by umožňoval provádět ošetření semen rychle a efektivně pro nasazení v komerčním využití, a který by vykazoval vysokou úspěšnost takto ošetřených semen po vysetí.

Podstata vynálezu

Vytčený úkol je vyřešen pomocí způsobu ošetření semen plazmatem a biopreparátem podle tohoto vynálezu.

Biopreparát pro ošetření rostlinných semen je tvořen kmenem hub rodu *Trichoderma virens* TVI-601-TACR, který je uložený v CCM - České sbírce mikroorganismů Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity, Kamenice 5, 625 00 Brno pod depozitním číslem vzorku CCM 8732.

Způsob ošetření semen zahrnuje nejprve krok, při kterém se na semena působí plazmovým výbojem. Dále zahrnuje krok, při kterém se na semena nanese alespoň jeden biopreparát, který je tvořen sporamai hub biologického vzorku majícího evidenční číslo CCM 8732 v CCM - České sbírce mikroorganismů Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity.

Podstata vynálezu spočívá v tom, že biopreparát je tvořen kmenem hub rodu *Trichoderma* *virens* TVI-601-TACR, který vegetuje na povrchu semene a kořenové soustavě rostliny rostoucí z ošetřeného semene, a který pro svůj životní cyklus napadá jiné houby, spadající do kategorie patogenních činitelů.

Současně biopreparát nanesený na plazmou sterilizovaný povrch semene brání znovunapadení ošetřeného semene nežádoucími druhy fytopatogenních hub. Vysetá plazmou a biopreparátem ošetřená semena a z nich rostoucí rostliny jsou chráněny před negativními vlivy choroboplodných zárodků fytopatogenních hub a hmyzích škůdců, které způsobují zánik semen a z nich rostoucích rostlin, snížení klíčivosti, zpomalení růstu, či snížení výsledné sklizně. Ošetření semen plazmatem sterilizuje povrch semen, současně povrch semen očistí a upraví jeho fyzikální vlastnosti pro lepší přilnutí biopreparátu na povrchu semen. Semena jsou ošetřena v plazmatu generovaném za sníženého tlaku v rozmezí od 40 Pa do 160 Pa nebo za atmosférického tlaku. Následně jsou semena stříkána roztokem, nebo máčena v roztoku, s obsahem spor biopreparátu, a poté jsou semena usušena, přičemž sušení semen probíhá za teploty v rozmezí od 5 °C do 60 °C.

Použití plazmového výboje generovaného za sníženého nebo atmosférického tlaku snižuje náročnost na technologii a cenu provádění ošetření. Stříkání nebo máčení semen není technologicky náročným krokem, který je vhodný pro masové rozšíření. Semena musejí být usušena za předepsané teploty, aby nedošlo ke znehodnocení spor biopreparátu, a současně aby nedošlo k poškození biologické funkce semen.

V dalším výhodném provedení způsobu ošetření semen plazmatem a biopreparátem podle vynálezu se po aplikaci biopreparátu semena uskladní za teploty v rozmezí od 5 °C do 15 °C. Nízké teploty zpomalují přirozené biologické funkce semen i spor biopreparátu a mají pozitivní vliv na proces uskladnění.

V dalším výhodném provedení způsobu ošetření semen plazmatem a biopreparátem podle vynálezu se semena ošetřují v kontinuálním režimu, nebo v dávkovém režimu. Kontinuální režim je vhodný pro průmyslové nasazení vynálezu, kdy je potřeba zpracovat velké objemy osiva. Dávkový režim je vhodnější pro menší závody a výzkumné provozy.

V dalším výhodném provedení způsobu ošetření semen plazmatem a biopreparátem podle vynálezu se na semena tvořená obilkami působí plazmovým výbojem o výkonu 200 W až 350 W generovaným z plazmové trysky za působení atmosférického tlaku po dobu od 1 minuty do 4 minut, přičemž vzdálenost ošetřovaných semen od plazmové trysky leží v rozmezí od 4 cm do 10 cm, při frekvenci míchání semen v rozmezí od 50 otáček za minutu do 60 otáček za minutu. Použití uvedených parametrů je vhodné především s ohledem na zachování biologické hodnoty semen, zejména klíčivosti. Přitom dojde ke zničení většiny choroboplodných zárodků přítomných na povrchu semen a ke zvýšení smáčivosti semen roztokem se sporami biopreparátu. S výhodou je tento způsob možno použít např. pro semena ječmene a pšenice.

V dalším výhodném provedení způsobu ošetření semen plazmatem a biopreparátem podle vynálezu se na semena rostliny brukey řepky působí plazmovým výbojem o výkonu 250 W až 750 W generovaným z plazmové trysky za atmosférického tlaku po dobu od 1 minuty do 8 minut, přičemž vzdálenost ošetřovaných semen od plazmové trysky leží v rozmezí od 4 cm do 10 cm, při frekvenci míchání semen v rozmezí od 50 otáček za minutu do 60 otáček za minutu.

V dalším výhodném provedení způsobu ošetření semen plazmatem a biopreparátem podle vynálezu se na semena rostlin ze skupiny okurka setá, len setý, slunečnice roční, tollice vojtěška, hořčice setá, kmín kořený, působí plazmovým výbojem o výkonu 250 W až 750 W generovaným z plazmové trysky za působení sníženého tlaku v rozmezí od 40 Pa do 160 Pa po dobu od 1 minuty do 8 minut, přičemž vzdálenost ošetřovaných semen od plazmové trysky leží v rozmezí od 4 cm do 10 cm, při frekvenci míchání semen v rozmezí od 50 otáček za minutu do 60 otáček za minutu.

V dalším výhodném provedení způsobu ošetření semen plazmatem a biopreparátem podle vynálezu se na semena rostliny mák polní působí plazmovým výbojem o výkonu 200 W až 350 W generovaným z plazmové trysky za působení atmosférického tlaku po dobu od 1 minuty do 4 minut, přičemž vzdálenost ošetřovaných semen od plazmové trysky leží v rozmezí od 4 cm do 10 cm, při frekvenci míchání semen v rozmezí od 50 otáček za minutu do 60 otáček za minutu.

Mezi výhody vynálezu patří vysoká odolnost semen vůči patogenním vlivům při skladování a po vysetí, včetně následné odolnosti vzrostlých rostlin. Ošetření semen dále vede ke zvýšení klíčivosti semen, ke zvýšení výnosů sklizně, k ranější sklizni, k masové využitelnosti pro průmyslové závody vyrábějící osiva. Mezi výhody rovněž patří rychlost provádění způsobu ošetření semen a především pak minimalizace negativních ekologických dopadů, kterými v současnosti jsou především metody založené na chemickém moření semen. Osivo ošetřené vynalezeným způsobem může být využito v podmínkách ekologického zemědělství.

Příklad uskutečnění vynálezu

Rozumí se, že dále popsané a zobrazené konkrétní případy uskutečnění vynálezu jsou představovány pro ilustraci, nikoliv jako omezení vynálezu na uvedené příklady. Odborníci znalí stavu techniky najdou nebo budou schopni zajistit za použití rutinního experimentování větší či menší počet ekvivalentů ke specifickým uskutečněním vynálezu, která jsou zde popsána. I tyto ekvivalenty budou zahrnuty v rozsahu následujících patentových nároků.

Semena pšenice seté tvořená obilkami jsou uložena v zásobníku, ze kterého jsou automaticky rovnoměrně vkládána na pásový dopravník, kterým jsou unášena pod maticí několika plazmových trysek s výbojem typu Gliding Arc. Plazmové výboje jsou generovány za působení atmosférického tlaku, a jejich výkon má přibližnou hodnotu 300 W. Vzdálenost semen od matrice plazmových trysek je 8 cm. Semena jsou vystavena plazmovým výbojům po dobu jedné minuty.

Po ošetření obilek plazmatem se semena pšenice seté dopravníkem potopí do lázně obsahující roztok spor kmene houby rodu *Trichoderma virens* TVI-601-TACR a dalších látek zvyšujících adhezi těchto spor na povrchu semen. Z lázně jsou semena dopravníkem unášena na síta, kde jsou semena intenzivně, a přitom šetrně, usušena teplým proudícím vzduchem o teplotě 45 °C. Po ošetření jsou semena uskladněna do doby vysetí v chladicím zařízení při teplotě 10 °C.

Testovaný vzorek ošetřených semen pšenice seté vykázal o 28 % vyšší klíčivost, než referenční vzorek, a současně testovaný vzorek vykázal o 17 % vyšší výnos, než referenční vzorek.

semena - obilky	nárůst klíčivosti [%]	nárůst výnosu [%]
ječmen	26	17
žito	25	10
kukuřice	12	8
oves	20	24

Semena rostliny brukev řepka v množství o hmotnosti 1 kg se uzavřou do vzduchotěsné nádoby opatřené míchadlem a plazmovou tryskou. Otáčky míchadla se nastaví na 50 otáček za minutu. V nádobě se sníží tlak na hodnotu 100 Pa. Výkon plazmového výboje se nastaví na hodnotu 500 W. Vzdálenost semen od plazmové trysky je 7 cm. Semena jsou ošetřena po dobu 8 minut.

Následně jsou semena vyjmuta z nádoby a ponořena do lázně roztoku obsahujícího spory kmene houby rodu *Trichoderma virens* TVI-601-TACR a dalších látek zvyšujících adhezi těchto spor na povrchu semen. Z lázně jsou semena přenesena na síta, kde jsou semena intenzivně, a přitom šetrně, usušena teplým proudícím vzduchem o teplotě 45 °C. Po ošetření jsou semena uskladněna do doby vyšetí v chladicím zařízení při teplotě 10 °C.

Testovaný vzorek ošetřených semen vykázal o 18 % vyšší klíčivost, než referenční vzorek, a současně testovaný vzorek vykázal o 23 % vyšší výnos, než referenční vzorek.

Semena jednoho druhu rostlin ze skupiny okurka setá, len setý, slunečnice roční, tolíce vojtěška, hořčice setá, kmín kořený, se v množství o hmotnosti 1 kg uzavřou do vzduchotěsné nádoby opatřené míchadlem a plazmovou tryskou. Otáčky míchadla se nastaví na 50 otáček za minutu. V nádobě se sníží tlak na hodnotu 120 Pa. Výkon plazmového výboje se nastaví na hodnotu 500 W. Vzdálenost semen od plazmové trysky je 6 cm. Semena jsou ošetřena po dobu 6 minut.

Následně jsou semena vyjmuta z nádoby a ponořena do lázně roztoku obsahujícího spory kmene houby rodu *Trichoderma virens* TVI-601-TACR a dalších látek zvyšujících adhezi těchto spor na povrchu semen. Z lázně jsou semena přenesena na síta, kde jsou semena intenzivně, a přitom šetrně, usušena teplým proudícím vzduchem o teplotě 45 °C. Po ošetření jsou semena uskladněna do doby vysetí v chladicím zařízení při teplotě 10 °C.

semena	nárůst klíčivosti [%]	nárůst výnosu [%]
okurka setá	18	21
len setý	21	10
slunečnice roční	23	19
tolice vojtěška	20	24
hořčice setá	11	17
krnín kořený	3	8

Semena rostliny mák polní se vloží v množství o hmotnosti 1 kg do nádoby opatřené míchadlem a plazmovou tryskou. Otáčky míchadla se nastaví na 50 otáček za minutu. V nádobě je ponechán atmosférický tlak. Výkon plazmového výboje se nastaví na hodnotu 200 W. Vzdálenost semen od plazmové trysky je 5 cm. Semena jsou ošetřena po dobu 2 minut.

Následně jsou semena vyjmuta z nádoby a ponořena do lázně roztoku obsahujícího spory kmene houby rodu *Trichoderma virens* TVI-601-TACR a dalších látek zvyšujících adhezi těchto spor na povrchu semen. Z lázně jsou semena přenesena na síta, kde jsou semena intenzivně, a přitom šetrně, usušena teplým proudícím vzduchem o teplotě 45 °C. Po ošetření jsou semena uskladněna do doby vysetí v chladicím zařízení při teplotě 10 °C.

Testovaný vzorek ošetřených semen máku polního vykázal o 5 % vyšší klíčivost, než referenční vzorek, a současně testovaný vzorek vykázal o 9 % vyšší výnos, než referenční vzorek.

Průmyslová využitelnost

Způsob ošetření semen plazmatem a biopreparátem podle vynálezu nalezne uplatnění v zemědělství, zejména v oblasti produkce osiv.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Kmen houby *Trichoderma virens* TVI-601-TACR pro ošetření rostlinných semen uložený v CCM - České sbírce mikroorganismů Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity, Kamenice 5, 625 00 Brno pod depozitním číslem vzorku CCM 8732.
2. Způsob ošetření semen kmenem houby podle nároku 1, ve kterém se nejprve na semena působí plazmovým výbojem, a následně se na semena nanese kmen hub, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že semena jsou ošetřena v plazmatu generovaného za tlaku v rozmezí od 40 Pa do 160 Pa, nebo za atmosférického tlaku, následně jsou stříkána nebo máčena roztokem s obsahem spor kmene houby *Trichoderma virens* TVI-601-TACR, a poté jsou semena usušena, přičemž sušení semen probíhá za teploty v rozmezí od 5 °C do 60 °C.
3. Způsob podle nároku 2, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že po aplikaci kmene houby se semena uskladní za teploty v intervalu od 5 °C do 15 °C.
4. Způsob podle nároku 2 nebo 3, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že semena se ošetřují v kontinuálním režimu, nebo v dávkovém režimu.
5. Způsob podle některého z nároků 2 až 4, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že na semena tvořená obilkami se působí plazmovým výbojem o výkonu 200 W až 350 W generovaným za atmosférického tlaku vystupujícím z plazmové trysky po dobu od 1 min do 4 min, přičemž vzdálenost ošetřovaných semen od plazmové trysky leží v rozmezí od 4 cm do 10 cm, při frekvenci míchání semen v rozmezí od 50 otáček za minutu do 60 otáček za minutu.
6. Způsob podle některého z nároků 2 až 4, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že na semena rostliny Brukev řepka se působí plazmovým výbojem o výkonu 250 W až 750 W generovaným za atmosférického tlaku po dobu od 1 min do 8 min, přičemž vzdálenost ošetřovaných semen od plazmové trysky leží v rozmezí od 4 cm do 10 cm, při frekvenci míchání semen v rozmezí od 50 otáček za minutu do 60 otáček za minutu.

7. Způsob podle některého z nároků 2 až 4, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že na semena rostlin ze skupiny okurka setá, len setý, slunečnice roční, tollice vojtěška, hořčice setá, kmín kořený se působí plazmovým výbojem o výkonu 250 W až 750 W generovaným za tlaku v rozmezí od 40 Pa do 160 Pa vystupujícím z plazmové trysky po dobu od 1 min do 8 min, přičemž vzdálenost ošetřovaných semen od plazmové trysky leží v rozmezí od 4 cm do 10 cm, při frekvenci míchání semen v rozmezí od 50 otáček za minutu do 60 otáček za minutu.

8. Způsob podle některého z nároků 2 až 4, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že na semena máku polního se působí plazmovým výbojem o výkonu 200 W až 350 W generovaným za atmosférického tlaku vystupujícím z plazmové trysky po dobu od 1 min do 4 min, přičemž vzdálenost ošetřovaných semen od plazmové trysky leží v rozmezí od 4 cm do 10 cm, při frekvenci míchání semen v rozmezí od 50 otáček za minutu do 60 otáček za minutu.