

UŽITNÝ VZOR

(11) Číslo dokumentu:

34 825

(13) Druh dokumentu: **U1**

(51) Int. Cl.:

A01P 3/00 (2006.01)

A01N 63/20 (2020.01)

A01N 25/02 (2006.01)

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2020-38345**

(22) Přihlášeno: **11.12.2020**

(47) Zapsáno: **02.02.2021**

(73) Majitel:
Mendelova univerzita v Brně, Brno, Černá Pole, CZ

(72) Původce:
Ing. Aleš Eichmeier, Ph.D., Rajhrad, CZ
Ing. Milan Špetík, Hnanice, CZ
Ing. Dorota Tekielska, Krakov, PL
Akila Berraf-Tebbal, Ph.D., Chérage-Alger, DZ

(54) Název užitého vzoru:
**Fungicidní přípravek vůči patogenní houbě
révy vinné *Phaeomoniella chlamydospora***

CZ 34825 U1

Fungicidní přípravek vůči patogenní houbě révy vinné *Phaeomoniella chlamydospora*

Oblast techniky

5

Předkládané technické řešení se týká fungicidního přípravku inhibujícího růst a množení patogenní houby *Phaeomoniella chlamydospora*, postihující zejména dřevo a vodivé svazky kmínku révy vinné. Fungicidní přípravek využívá bakterie *Saccharothrix algeriensis* pro inhibici růstu tohoto houbového patogenu.

10

Dosavadní stav techniky

Aktinobakterie (Actinobacteria) nebo také aktinomycety jsou gram-pozitivní půdní bakterie schopné kolonizovat rostliny. Jsou známé svojí schopností produkovat mnoho sekundárních metabolitů včetně metabolitů fungicidních. Tyto metabolity mohou poskytovat benefiční účinek hostitelským rostlinám, jako potlačení patogenity některých houbových patogenů, např. *Phaeomoniella chlamydospora* (W. Gams, Crous, M.J. Wingf. & Mugnai) Crous & W. Gams. Tato houba kolonizuje vodivá pletiva révy vinné a jiných dřevin.

20

Je známo, že některé půdní bakterie lze s výhodou použít k inokulaci rostlin s cílem stimulovat růst, a to přímým účinkem, tj. např. produkcí látek stimulujících růst, či nepřímým účinkem, tj. např. antagonistickým účinkem vůči fytopatogenním houbám ke zlepšení zdravotního stavu rostlin.

25

Podstata technického řešení

Mezi Aktinobakterie patří například druh *Saccharothrix algeriensis*, izolovaný z půdy Sahary. Bylo zjištěno, že tento druh produkuje sekundární metabolity, které inhibují růst některých patogenních hub, zejména *Phaeomoniella chlamydospora*, která parazituje zejména na dřevě révy vinné (*Vitis vinifera* L.). Byl proto navržen a vyzkoušen fungicidní přípravek pro ochranu révy vinné před napadením těmito houbovými patogeny. Tento fungicidní přípravek obsahuje druh *Saccharothrix algeriensis* a vhodné růstové médium, doplnění na vhodnou koncentraci je provedeno fyziologickým roztokem.

35

Předmětem předkládaného technického řešení je fungicidní přípravek pro ošetření révy vinné, který eliminuje či omezuje růst patogenní houby *Phaeomoniella chlamydospora*. Fungicidní přípravek obsahuje druh bakterie *Saccharothrix algeriensis*, 0,9% (w/v) fyziologický roztok a růstové médium na bázi agaru se sladivým a kvasničným extraktem, přičemž 1000 ml přípravku obsahuje od $5 \cdot 10^5$ do $15 \cdot 10^5$ CFU (Colony Forming Units) bakterie *Saccharothrix algeriensis* a od 40 do 50 g uvedeného růstového média, doplněno do 1000 ml 0,9% (w/v) fyziologickým roztokem.

45

0,9% (w/v) fyziologickým roztokem se rozumí vodný roztok NaCl, připravený rozpuštěním 9 g NaCl v 1000 ml vody.

Růstové médium na bázi agaru se sladivým a kvasničným extraktem je dostupné komerčně, například jako ISP2 (výrobce HiMedia Laboratories Pvt. Ltd). Přibližné složení tohoto média, uváděné výrobcem, je 4 g kvasničného extraktu, 10 g sladového extraktu, 4 g dextrosy, 20 g agaru a 1000 ml destilované vody. Uvedené pH je 7.

50

Bakterie *Saccharothrix algeriensis* jsou s výhodou ve formě zásobního roztoku (rozpuštěním je fyziologický roztok), typicky má zásobní roztok koncentraci 10^8 CFU/1000 ml.

Fungicidní přípravek podle předkládaného technického řešení je výhodné skladovat při teplotě nepřesahující 5 °C a ve tmě.

5 S výhodou se jako kmen bakterie *Saccharothrix algeriensis*, použije *Saccharothrix algeriensis* SA 233, uložený ve sbírce DSMZ-German Collection of Microorganisms and Cell Cultures GmbH, Leibniz Institute, Inhoffenstraße 7B, 38124 Braunschweig, Německo, pod označením DSM 44581.

10 Ve výhodném provedení obsahuje fungicidní přípravek 10^6 CFU bakterie *Saccharothrix algeriensis* a 42 g růstového média na bázi agaru se sladidlovým a kvasničným extraktem, doplněno do 1000 ml 0,9% (w/v) fyziologickým roztokem.

pH fungicidního přípravku je s výhodou od 6,5 do 7,5.

15 Fungicidní přípravek podle předkládaného technického řešení se připraví rozpuštěním růstového média na bázi agaru se sladidlovým a kvasničným extraktem v 0,9% (w/v) fyziologickém roztoku a přidáním příslušného množství zásobního roztoku kmene bakterie *Saccharothrix algeriensis*. Příprava fungicidního přípravku probíhá s výhodou za stálého míchání a při teplotě 25 °C.

20 Fungicidní přípravek podle předkládaného technického řešení je vhodný k aplikaci prostřednictvím hydratace sazenic po dobu 24 hodin před výsadbou tak, aby byl ponořen celý kořenový systém rostliny ve fungicidním přípravku.

25 Objasnění výkresů

Obrázek 1: Inhibiční aktivita fungicidního přípravku vůči houbě *P. chlamydospora*

30 Příklad uskutečnění technického řešení

Příklad uvedený níže dokládá inhibiční působení fungicidního přípravku, obsahujícím bakterie *Saccharothrix algeriensis* SA 233, na růst a množení houbového patogenu *Phaeoconiella chlamydospora*.

35 Pro přípravu fungicidního přípravku byl použit kmen bakterie *Saccharothrix algeriensis* SA 233, uložený ve sbírce DSMZ-German Collection of Microorganisms and Cell Cultures GmbH, Leibniz Institute, Inhoffenstraße 7B, 38124 Braunschweig, Německo, pod označením DSM 44581.

40 Pro přípravu 1000 ml fungicidního přípravku bylo použito 10 ml 10^8 CFU bakterie *S. algeriensis* SA 233, 990 ml 0,9% NaCl fyziologického roztoku (vodný roztok NaCl, obsahující 9 g NaCl v 1000 ml roztoku) a 42 g růstového média na bázi agaru se sladidlovým a kvasničným extraktem média (pepton 5 g/l, kvasniční extrakt 3 g/l, sladidlový extrakt 3 g/l, dextróza 10 g/l, agar 20 g/l). Všechny uvedené složky byly smíchány při teplotě 25 °C a udržovány při této teplotě po celou dobu experimentu. Výsledný produkt byl uchován ve tmě a 5 °C.

45 Pro kultivaci houbového patogenu *Phaeoconiella chlamydospora* bylo použito PDA růstové médium, obsahující 20 g dextrózy a 20 g agaru na 1000 ml vody (pH 5 až 6).

50 Na růstové médium obsahující PDA (Potato dextrose agar) bylo rozetřeno 500 μ l roztoku obsahujícího spory houby *P. chlamydospora* o koncentraci 10^6 CFU.ml⁻¹. Následně byl do středu Petriho misky o poloměru 45 mm aplikován fungicidní přípravek obsahující bakterie *Saccharothrix algeriensis* (připravený výše) v množství 20 μ l. Jako pozitivní kontrola byla použita stejně připravená Petriho miska s *P. chlamydospora*, ale bez aplikovaného fungicidního přípravku. Misky byly následně kultivovány při 28 °C, 10 dní. Porovnání Petriho misek je zobrazeno na
55 Obrázku 1. Po deseti dnech byl změřen poloměr inhibiční zóny vzniklé okolo místa aplikace

fungicidního přípravku. Celý experiment byl proveden na pěti Petriho miskách ve třech opakováních. Na základě získaných dat byl vypočítán inhibiční index I (%), podle vzorce $I (\%) = 100 - [(1 - Ra/R) \times 100]$; kde R = poloměr Petriho misky (45 mm), Ra = poloměr inhibiční zóny kolem fungicidního přípravku.

5

Výsledky jsou uvedeny v Tabulce 1.

Tabulka 1: Výsledky měření inhibičních zón.

Opakování	Poloměr inhibiční zóny [mm]	Inhibiční Index [%]
Průměr 1. opakování	10,7	23,8
Průměr 2. opakování	10,5	23,3
Průměr 3. opakování	11,0	24,5
Průměr všech opakování	10,7	23,8

10

Výsledkem experimentu je potvrzení fungicidních vlastností fungicidního přípravku na bázi *Saccharothrix algeriensis* vůči patogenní houbě *Phaeoconiella chlamydospora*.

15

Průmyslová využitelnost

Technické řešení lze využít ve školkách produkující sazenice révy vinné nebo při výsadbě nových vinohradů. Fungicidní přípravek se aplikuje prostřednictvím hydratace sazenic po dobu 24 hodin před výsadbou, tak aby byl ponořen celý kořenový systém rostlin ve fungicidním přípravku.

20

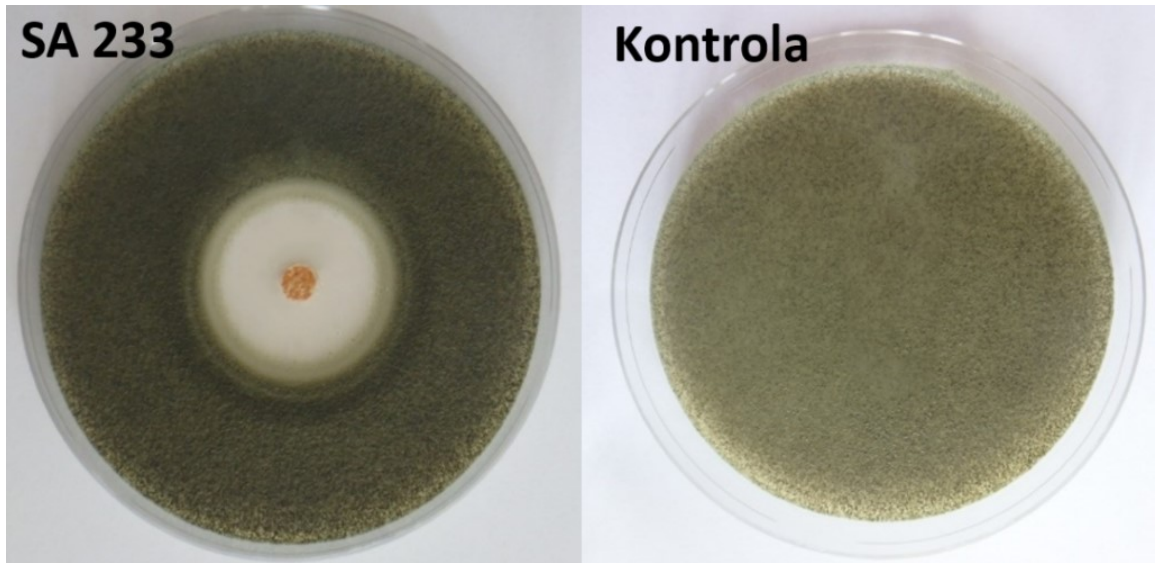
NÁROKY NA OCHRANU

1. Fungicidní přípravek pro ošetření révy vinné, **vyznačený tím**, že obsahuje kmen bakterie
5 *Saccharothrix algeriensis* SA 233, uložený ve sbírce DSMZ-German Collection of
Microorganisms and Cell Cultures GmbH, Leibniz Institute, Inhoffenstraße 7B, 38124
Braunschweig, Německo, pod označením DSM 44581, a růstové médium na bázi agaru se
sladinovým a kvasničným extraktem, rozpuštěné v 0,9% (w/v) fyziologickém roztoku,
10 přičemž 1000 ml fungicidního přípravku obsahuje od $5 \cdot 10^5$ do $15 \cdot 10^5$ CFU bakterie
Saccharothrix algeriensis a od 40 do 50 g uvedeného růstového média, doplněno do 1000 ml
0,9% (w/v) fyziologickým roztokem.

2. Fungicidní přípravek podle nároku 1, **vyznačený tím**, že 1000 ml přípravku obsahuje
15 10^6 CFU bakterie *Saccharothrix algeriensis* SA 233, uložené ve sbírce DSMZ-German
Collection of Microorganisms and Cell Cultures GmbH, Leibniz Institute, Inhoffenstraße 7B,
38124 Braunschweig, Německo, pod označením DSM 44581, a 42 g růstového média na bázi
agaru se sladinovým a kvasničným extraktem, doplněno do 1000 ml 0,9% (w/v) fyziologickým
roztokem.

20

1 výkres



Obr. 1