



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **147555** (13) **U**
(51) МПК (2021.01)

A01C 1/00

G01N 33/02 (2006.01)

A01G 22/25 (2018.01)

G09B 23/38 (2006.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2020 08173	(72) Винахідник(и): Мельник Альона Тодорівна (UA), Кирик Микола Миколайович (UA), Гунчак Володимир Михайлович (UA), Зея Аврелія Георгіївна (UA), Нікорюк Марія Георгіївна (UA), Соломійчук Михайло Петрович (UA)
(22) Дата подання заявки: 21.12.2020	
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 20.05.2021	
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 19.05.2021, Бюл.№ 20	(73) Володілець (володільці): УКРАЇНСЬКА НАУКОВО-ДОСЛІДНА СТАНЦІЯ КАРАНТИНУ РОСЛИН ІЗР НААН, с. Бояни, Новоселицький р-н, Чернівецька обл., 60321 (UA)

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ФУНГІЦИДНОЇ ДІЇ ПРЕПАРАТУ ПЛАНРИЗ ПРОТИ ЗБУДНИКА АЛЬТЕРНАРІОЗУ КАРТОПЛІ ALTERNARIA ALTERNATA (KESSLER)

(57) Реферат:

Спосіб визначення фунгіцидної дії препарату Планриз проти збудника альтернаріозу картоплі включає зараження сортів картоплі інокулюмом патогена та обробку рослин картоплі препаратом. Реакцію рослин на зараження після обробки препаратом визначають на сьомий день аналізом активності окисно-відновних ферментів.

UA 147555 U

UA 147555 U

Корисна модель належить до галузі сільського господарства, зокрема до визначення стійкості сортів картоплі до альтернаріозу.

В галузі сільського господарства відомі способи визначення дії препаратів до альтернаріозу картоплі для отримання високих врожаїв. Останньою тенденцією сучасного насінництва картоплі є використання елітних сортів даної культури та застосування біологічних препаратів. Вони відпрацьовані відповідно до їх призначення і відрізняються між собою [2, 4].

Найближчим аналогом корисної моделі є спосіб визначення ефективності дії препаратів проти хвороб [5, 6].

Спосіб включає в себе зараження бульб картоплі інокулюмом збудника альтернаріозу *Alternaria alternata* (Keissler), обробку препаратом та визначення ефективності його дії проти патогену.

Спосіб-найближчий аналог має низку суттєвих недоліків:

1. Він є клопітким та вимагає затрат часу.

2. Довготривалість (вегетаційний період розвитку картоплі).

3. Отримані результати не розкривають механізм фунгіцидної дії препарату.

В основу корисної моделі поставлено задачу виявити фунгіцидну дію препарату за умов зараження рослин картоплі збудником альтернаріозу.

Поставлена задача вирішується тим, що у запропонованому способі бульби картоплі заражають інокулюмом збудника альтернаріозу, в подальшому їх обробляють різними концентраціями препарату Планриз, згідно з корисною моделлю, через сім діб після обробки уражених сортів картоплі шляхом визначення активності окисно-відновного ферменту пероксидази визначають фунгіцидну дію препарату до збудника.

Дослідженнями наукових співробітників УкрНДСКР ІЗР НААН, встановлена фунгіцидна дія препарату Планриз проти альтернаріозу картоплі.

1. Запропонований спосіб не є клопітким.

2. Спосіб дозволяє визначити фунгіцидну дію препарату проти альтернаріозу на сьомий день після зараження збудником альтернаріозу.

Отже, спосіб, що заявляється, відповідає критеріям корисної моделі "новизна" та "суттєві відміни".

Приклади здійснення способів.

Приклад 1 (найближчий аналог).

Для визначення ефективності дії препарату Планриз (живі клітини бактерій *Pseudomonas fluorescens* (штам AP - 33) проти збудника альтернаріозу картоплі *Alternaria alternata* (Keissler), бульби картоплі обробляли різними концентраціями препарату Планриз.

Для дослідницької роботи використовували сорти картоплі: ранній сорт (Серпанок), як сприйнятливий та середньопізній Поліське джерело, як сорт, що має стійкість.

Зразки бульб досліджуваних сортів картоплі заражали, вносячи інокулюм збудника альтернаріозу (двотижнева культура патогену на картопляно-глюкозному агарі) шприцом на глибину 10 мм.

Інокульовані бульби висаджували у ящики з ґрунтом, де зберігались упродовж 6-7 тижнів за умов 25-30 °C до прояву ознак хвороби, після закінчення даного терміну проводився облік уражених рослин картоплі. У сприйнятливих сортів картоплі спостерігається поява коричневих плям на листових пластинках. Облік ураження рослин та розвиток хвороби здійснювали на 60 день експерименту.

Визначення ефективності дії препарату провадили за формулою:

$E_d = 100 \times (P_k - P_d / P_k)$, де

P_k - показник розвитку хвороби у контролі, відповідно, до обробки;

P_d - показник розвитку хвороби у досліді після обробки.

Розрахунки проводились згідно з "Методикою випробування і застосування пестицидів" [4].

Статистичну обробку результатів досліджень провадили за Масловим Ю.І. [3].

На основі проведених досліджень встановлена ефективність біопрепарату Планриз для обробки бульб картоплі проти альтернаріозу.

Використання препарату Планриз в нормі витрати 2,0 л/га на сортах Серпанок, Поліське джерело сприяло зменшенню розвитку хвороби до 78,5 % для сорту Серпанок та 63,4 % для сорту Поліське джерело, тоді як у контролі цей показник складав 100 % для всіх сортів картоплі.

При цьому ефективність використання фунгіциду склала 27,6 % для сорту Серпанок та 41,8 % - Поліське джерело.

При збільшенні норми фунгіциду до 2,5 та 3,0 л/га розвиток хвороби зменшився відповідно від 65,7 % до 51,2 % у сорту Серпанок та від 52,4 % до 41,5 % у сорту Поліське джерело,

ефективність використання препарату збільшилась до 61,9 % (додаток табл. 1., додаток табл. 2)

Приклад 2 (корисна модель).

Після обробки рослин картоплі препаратом Планриз та їх зараження інокулюмом збудника альтернаріозу за прикладом 1, з уражених рослин картоплі сортів Серпанок та Поліське джерело через сім днів виділяли білковий екстракт, визначаючи активність окисно-відновного ферменту пероксидази, який вважається "аварійним ферментом" [1], миттєво реагуючий на будь-який фактор стресу, який в свою чергу здійснює вплив на рослинний об'єкт (температура, вологість, вплив фітопатогенів) за методом Починка Б.П. [7].

Із 5 г паросткової частини бульб виділяли екстракт шляхом розтирання з 5 мл трис-боратного буферу (рН 7,8) та центрифугуванням за 6000 об./хв. упродовж 10 хв. Для визначення пероксидазної активності 1 мл екстракту інкубували з 1 мл 0,1 % розчином H_2O_2 та забарвлювали 0,01 % розчином бензидину упродовж 5-10 хвилин до появи блакитного забарвлення. Визначали величину екстинкції на спектрофотометрі "Ломо-46" за 600 нм. Активність пероксидази визначали за наступною формулою:

$$A = \frac{E \cdot K}{t} \quad [2], \text{ де:}$$

A - активність ферменту (у мкмоль бензидину $\times 100/1$ г.хв.);

E - величина екстинкції;

K - коефіцієнт пропускання світла при 600 нм;

t - час інкубації ферменту з субстратом та прояви забарвлення (див. табл. 3).

У результаті проведених досліджень встановлено, що у необроблених сортів картоплі активність пероксидази коливалась у межах 0,43-0,60 мкмоль/г.хв. (табл. 3). Активність пероксидази на сьомий день після зараження збудником альтернаріозу у оброблених препаратом Планриз сортів картоплі Серпанок та Поліське джерело зменшувалась у два рази та складала 0,28-0,34 мкмоль/г.хв. (табл. 1., табл. 2).

Таким чином, шляхом визначення активності пероксидази упродовж семи днів після обробки препаратом, можна визначити фунгіцидну дію препарату Планриз проти збудника альтернаріозу картоплі *Alternaria alternata* (Keissler): чим вища активність пероксидази, тим менша ефективність дії препарату.

Запропонований спосіб визначення фунгіцидної дії мікробіологічного препарату Планриз проти збудника альтернаріозу був підтверджений експериментальною перевіркою, яка здійснювалась при зараженні сортів картоплі, отриманих з Інституту картоплярства НААН.

Таблиця 1

Визначення ефективності препарату Планриз проти збудника альтернаріозу картоплі (сорт картоплі Серпанок)

Варіанти дослідів	Норма витрати	Ураження рослин, %	Розвиток хвороби, %	Ефективність препарату, %
Контроль (без препарату)	-	100	100	-
Планриз	2,0 л/га	95,3	78,5	27,6
Планриз	2,5 л/га	84,6	65,7	39,2
Планриз	3,0 л/га	72,8	51,2	51,4
НСР ₀₅		4,4	5,7	-

Таблиця 2

Визначення ефективності препарату Планриз проти збудника альтернаріозу картоплі (сорт картоплі Поліське джерело)

Варіанти дослідів	Норма витрати	Ураження рослин, %	Розвиток хвороби, %	Ефективність препарату, %
Контроль (без препарату)	-	100	100	-
Планриз	2,0 л/га	69,7	63,4	41,8
Планриз	2,5 л/га	55,4	52,4	52,6
Планриз	3,0 л/га	42,5	41,5	61,9
НСР ₀₅		2,9	2,2	-

Таблиця 3

Визначення ефективності препарату Планриз (3,0л/га) та активності пероксидази сортів картоплі у процесі зараження збудником альтернаріозу

Назва сорту картоплі	Ураження рослин, %	Ефективність препарату, % (найближчий аналог)	Активність пероксидази у необроблених рослин (корисна модель)	Активність пероксидази у оброблених рослин (корисна модель)
Серпанок	72,8	51,4	0,60	0,34
Поліське джерело	42,5	61,9	0,43	0,28

Джерела інформації:

1. Витол И.С. Использование пероксидазы и глютомат дегидрогеназы в качестве биохимических маркеров в биотехнологических исследованиях на картофеле / И.С. Витол, В.С. Мелик-Саркисов, В.Н. Аветисов, И.Г. Дубровский // Доклады ВАСХНИЛ. 1989. - № 10. - С. 14-15.
2. Мельник А.Т. "Зміна активності пероксидази у бульбах картоплі, інфікованих збудниками альтернаріозу" / А.Т. Мельник, В.М. Гунчак, М.М. Кирик, О.В. Панімарчук // Картоплярство - 2014. - № 42 - С. 19-24.
3. Маслов Ю.И. Статистическая обработка данных биохимических исследований // Методы биохимического анализа растений. / Ю.И. Маслов. Л., 1986. - С. 163-178.
4. Методики випробування і застосування пестицидів / С.О. Трибель, Д.Д. Сігарьова, М.П. Секун, О.О. Іващенко та ін. За ред. проф. С.О. Трибеля. - К. - Світ. - 2001. - 448 с.
5. Патент України на корисну модель № 126208 від 11.06.2018 р. Спосіб визначення імунотекторної дії біологічного препарату Регоплант проти альтернаріозу картоплі / Мельник А.Т., Кирик М.М., Гунчак В.М., Зеля А.Г., Нікорюк М.Г., Скорейко А.М., Кувшинов О.Я., Соломійчук М.П., Кочмаровська У.С., Пономаренко С.П. // Промислова власність. Офіційний бюлетень. Бюл. № 11.
6. Патент України на корисну модель № 126792 від 10.07.2018 р. Спосіб визначення імунотекторної дії біологічного препарату Стимпо проти альтернаріозу картоплі / Мельник А.Т., Кирик М.М., Гунчак В.М., Зеля А.Г., Нікорюк М.Г., Андрійчук Т.О., Кувшинов О.Я., Ілінчук М.В., Немченко А.О., Пономаренко С.П., Макар Т.Й. // Промислова власність. Офіційний бюлетень. Бюл. № 13.
7. Сахаров И.Ю. Биохимические методы анализа // И.Ю. Сахаров, Москва. - 2010. - 391 с.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- Спосіб визначення фунгіцидної дії препарату Планриз проти збудника альтернаріозу картоплі, який включає зараження сортів картоплі інокулюмом патогена та обробку рослин картоплі препаратом, який **відрізняється** тим, що реакцію рослин на зараження після обробки препаратом визначають на сьомий день аналізом активності окисно-відновних ферментів, що дозволяє визначити ефективність дії препарату.