

# PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

## 305 975

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.:

*A01N 63/02* (2006.01)  
*C14C 3/32* (2006.01)  
*C09H 1/04* (2006.01)  
*C09H 3/00* (2006.01)

(19)  
ČESKÁ  
REPUBLIKA



ÚŘAD  
PRŮMYSLUVÉHO  
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2011-670**  
(22) Přihlášeno: **19.10.2011**  
(40) Zveřejněno: **12.06.2013**  
**(Věstník č. 24/2013)**  
(47) Uděleno: **20.04.2016**  
(24) Oznámení o udělení ve věstníku: **01.06.2016**  
**(Věstník č. 22/2016)**

(56) Relevantní dokumenty:

Lima D. Q. et al.: "Leather Industry Solid Waste as Nitrogen Source for Growth of Common Bean Plants"; Applied and Environmental Soil Science 2010, ID 703842, 7 str.; Kolomazník K., Uhlířova M.: "Valuable products obtained by biotechnology from protein waste"; J. of Biotech., vol. 131, issue 2, 09. 2007., str. 263, abstract; Pecha J. et al.: "Protein biostimulant foliar uptake modeling: The impact of climatic conditions", article first published on-line 20. 09. 2011, DOI:10.1002/aic.12739; Friebrová V. a kol.: "Využití kolagenových odpadů pro výrobu induktorů rezistence kulturních rostlin" Symposium Odpadové fórum 2011, 13.-15.04.2011 Kouty nad Desnou.  
EP 2210678 A.

(73) Majitel patentu:

Ústav experimentální botaniky  
Akademie věd České republiky, v. v. i., Praha 6,  
CZ  
Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta aplikované informatiky, Zlín, CZ  
OSEVA vývoj a výzkum s.r.o., Zubří, CZ  
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v. v. i., Praha 6 -  
Ruzyně, CZ

(72) Původce:

doc. Ing. Lenka Burketová, CSc., Praha 6, CZ  
Ing. Vladimír Šašek, Ph.D., Praha 2, CZ  
prof. Ing. Karel Kolomazník, DrSc., Zlín 5, CZ  
Ing. Jiří Havel, CSc., Opava - Komárov, CZ  
Ing. Lubomír Věchet, CSc., Doksy u Kladna, CZ

(74) Zástupce:

Ing. Václav Herman, Hlavní 43, 252 43 Průhonice

(54) Název vynálezu:

**Biostimulátor rostlin**

(57) Anotace:

Řešení se týká biostimulátoru rostlin na bázi bílkovinných odpadů, způsobilého indukovat rezistenci rostlin k chorobám, který je tvořený alkalicky nebo kyselé zhydrolyzovanými kolagenními odpady a keratinem, což jsou odpady koželužského, obuvnického, masného, potravinářského a zemědělského průmyslu, kde má zhydrolyzovaná kolagenní a/nebo keratinová surovina biostimulátoru molekulární hmotnost v rozsahu od 3000 do 100 000 g.mol<sup>-1</sup>.

CZ 305975 B6

## **Biostimulátor rostlin**

### Oblast techniky

5

Předložený vynález se týká tekutých biostimulátorů rostlin na bázi bílkovinných odpadů způsobilych indukovat rezistenci rostlin k chorobám a stimulovat jejich vývoj, které jsou tvořené kolagenními odpady a keratinem, zhydrolyzovanou kolagenní a/nebo keratinovou surovinou, což jsou proteinové odpady z koželužského, obuvnického, masného, potravinářského nebo zemědělského průmyslu.

10

### Dosavadní stav techniky

15

Pesticidy a stimulatory růstu a vývoje rostlin na chemické bázi jsou standardní součástí pěstitelské technologie. Mají sice dobrý a často dlouhodobý účinek na příslušného škodlivého činitele s rychlým nástupem působení, ale představují nezanedbatelnou zátěž pro životní prostředí. Kromě toho mohou působit nespécificky, tj. se škodlivým činitelem současně potlačují i užitečné druhy, které by bylo potřeba v ekosystému zachovat. Stále více se proto používají biologické přípravky na ochranu rostlin a stimulaci růstu a vývoje. V systémech ekologického zemědělství je použití přípravků na chemické bázi zakázáno, tam představují biopreparáty jedinou použitelnou alternativu. Na rozdíl od látek na chemické bázi mají biopreparáty pozvolný nástup účinku, účinek může být slabší, mohou být dražší a často vyžadují dodržení specifických podmínek pro jejich aplikaci. Pro tyto nevýhody byly biopreparáty používány v systémech konvenčního zemědělství jen omezeně. Situace se ale rychle a radikálně mění. Obecně závaznými předpisy je nyní kladen čím dál tím větší důraz na tzv. udržitelné použití pesticidů. Jde o další etapu dlouhodobého úsilí o minimalizaci negativního působení pesticidů s praktickým dopadem do tzv. integrované ochrany rostlin. Cílem integrované ochrany rostlin je zajištění dostatečné úrovně ochrany rostlin s minimálním použitím pesticidů. Proto v ní bude zákonitě hrát stále významnější roli použití biopreparátů. Materiál na čistě přírodní bázi je dobře a rychle odbouratelný a nezatěžuje proto životní prostředí.

20

25

30

Cílem vynálezu je proto navrhnout biostimulátor rostlin, který by stanoveným požadavkům ohledně vlivu na životní prostředí dobře vyhovoval, byl účinný, technologicky snadno výrobitelný a co do nákladů na vstupní suroviny nenáročný.

35

### Podstata vynálezu

40

Výše uvedené nedostatky stavu techniky prakticky odstraňuje a vytčený cíl včetně ekonomické nevýhodnosti vyšší ceny dosavadních biologických přípravků řeší biostimulátor rostlin na bázi bílkovinných odpadů schopný indukovat rezistenci rostlin k chorobám, který je tvořený alkalicky nebo kysele hydrolyzovanou kolagenní a/nebo keratinovou surovinou, což jsou proteinové odpady z kožedělného, masného, potravinářského, zemědělského nebo obuvnického průmyslu nebo jejich směs, podle vynálezu, jehož podstata spočívá v tom, že má molekulární hmotnost 3000 až 100 000 g.mol<sup>-1</sup>.

45

50

55

Jako suroviny pro výrobu hydrolyzátů se tedy používají odpady průmyslu koželužského, tzv. chromité postružiny, obuvnického, tj. manipulační odpady, masného, např. šlachy, potravinářského, např. odpadní kolagenní těsto a vytvrzená odpadní kolagenní střívka a zemědělského průmyslu. Uvedené proteinové odpady jsou produkovány ve značných kvantech a byly dosud ve většině případů likvidovány spalováním nebo ukládány na skládkách ve specifických lokalitách. Takové řešení zatěžuje životní prostředí a nezřídka je likvidace proteinových odpadů zatížena poplatky. Za těchto okolností je navržené využití proteinových odpadů pro produkci biologických ochranných přípravků a jejich masovému použití v zemědělské výrobě velmi zajímavé.

Pro praktické použití je třeba bílkovinné odpady ztekutit, což se provádí alkalickou, případně kyselou hydrolyzou. Oba postupy se mohou vhodně kombinovat a pro urychlení, hydrolyzy lze s výhodou podle vynálezu využít rovněž katalytických účinků, vybraných enzymů.

5

Podle vynálezu je také výhodné, obsahuje-li tekutý proteinový hydrolyzát 20 až 40 % hmotnosti sušiny a 14 až 17 % hmotnosti organického dusíku v sušině. Jako doplněk může biostimulátor podle vynálezu obsahovat také draslík a pro účely listového hnojení i fosfor. Tato kombinace se provádí již přímo v samotném procesu hydrolyzy, kdy se jako alkálie použije uhličitán draselný nebo hydroxid draselný a k úpravě pH se použije kyselina dusičná v případě NK (dusík, draslík) hnojiva nebo kyselina fosforečná v případě NPK (dusík, fosfor, draslík) hnojiva.

10

Jako biostimulátor je vhodné použít čistý proteinový hydrolyzát s obsahem 17 % organického dusíku v sušině o molekulární hmotnosti 3000 až 5000 g.mol<sup>-1</sup>, který má schopnost zvyšovat výnos semen a zlepšit odolnost proti houbovým chorobám. Zvýšení výnosu je dosaženo lepším využitím výnosového potenciálu rostlin a dodaných živin. Aplikace proto zvyšuje výnosovou jistotu ošetřené plodiny. Pro účely kombinace s ochrannými chemickými přípravky je vhodné používat hydrolyzát vyšší molekulární hmotnosti např., 50 000 až 100 000 g.mol<sup>-1</sup>. Pro zvýšení životnosti a při zmenšeném obsahu chemického ochranného přípravku se podle vynálezu doporučuje přídavek dialdehydu škrobu. Tímto způsobem lze snížit spotřebu toxických chemikálií zhruba 4x, čímž se značně sníží ekologické zatížení půdního fondu.

15

20

Zvýšení odolnosti rostlin proti chorobám uvedenými hydrolyzáty je založeno na principu indukované rezistence, tj. metody ochrany rostlin proti patogenům a škůdcům využívající vlastní imunitní systém rostlin. V přirozených podmínkách se rostlina brání infekci tehdy, pokud dokáže včas aktivovat účinné obranné mechanismy po napadení. K tomu dochází na základě rozpoznání povrchových molekul na těle patogenů a škůdců. Hydrolyzáty kolagenu mohou tyto molekulové vzory substituovat a vyvolat v rostlinách stejný typ obranných reakcí, jaké jsou spuštěny samotnými patogeny, ještě před jejich výskytem v poli. Hydrolyzáty kolagenu jsou zajímavé jako potenciální induktory proteinové povahy. Svou šroubovicovou strukturou se kolagen podobá některým bakteriálním proteinům rozpoznávaným imunitními receptory rostlin a dále je součástí těla hmyzu a fytopatogenních hád'átek. Proti těmto dvěma skupinám organismů se rostliny rovněž aktivně brání, tudíž je možné, že kolagen je jednou z molekul spouštějících tyto reakce.

25

30

35

#### Příklady uskutečnění vynálezu

Vynález bude nyní blíže objasněn a dokumentován na popisu několika realizovaných příkladů konkrétních provedení.

40

#### Příklad 1

##### Čistý hydrolyzát

45

Produkt alkalické hydrolyzy katalyzované isopropylaminem a proteolytickým enzymem. Výchozí surovinou je komerční hydrolyzát HYKOL-E STOSPOL vyrobený alkalickou dechromací postružin za katalýzy proteolytického enzymu ALCALASEDXL (výrobce Novonordisk, Dánsko) postupem popsáným v práci Kolomazníka a spol. (Kolomazník K., Mládek M., Langmaier F., Janáčková D. Experience in industrial practise of enzymatic dechromation of chromé shavings. JLCA. 1999; 94: 55-63).

50

Složení:       organický dusík 18 %  
                  CaO (oxid vápenatý) 0,5 %

$$M_w = 5500 \text{ g.mol}^{-1}$$

## Příklad 2

5

## Hydrolyzovaný odpadní kolagen C0

Výchozí surovinou pro hydrolýzu je odpadní kolagen enzymově hydrolyzovaný s použitím isopropylaminu obsahující organicky vázanou síru.

10

$$M_n = 7900 \text{ g.mol}^{-1}; M_w = 21\,800 \text{ g.mol}^{-1}$$

## Příklad 3

15

## Keratinový hydrolyzát K1

$$M_n = 3100 \text{ g.mol}^{-1}; M_w = 7000 \text{ g.mol}^{-1}$$

20

## Příklad 4

## Hydrolyzovaný odpadní kolagen C2

$$M_n = 1500 \text{ g.mol}^{-1}; M_w = 3200 \text{ g.mol}^{-1}$$

25

## Příklad 5

## 30 Zvýšení výnosů semen u ozimé řepky

Biologický hydrolyzát z příkladu 1 byl aplikován postřikem na list u odrůdy ozimé řepky

Oponent na jaře ve fázi dlouhivého růstu v dávce 5 l hydrolyzátu + 300 l vody na hektar. Tato aplikace zvýšila výnos semen o 7,6 %.

35

## Příklad 6

## 40 Zvýšení výnosů semen u ozimé řepky

Biologický hydrolyzát z příkladu 1 byl aplikován postřikem na list u odrůdy ozimé řepky

Executive na jaře ve fázi dlouhivého růstu v dávce 5 l hydrolyzátu + 300 l vody na hektar. Tato aplikace zvýšila výnos semen o 10,41 %.

45

## Příklad 7

## 50 Zlepšení zdravotního stavu ozimé řepky

Biologický hydrolyzát z příkladu 1 byl aplikován postřikem na list u odrůdy ozimé řepky Ontario na jaře ve fázi dlouhivého růstu v dávce 5 l hydrolyzátu + 300 l vody na hektar. Tato aplikace snížila podíl rostlin napadených hlízenkou obecnou (*Sclerotinia sclerotiorum*) z 30 % u neošetřené kontroly na 10 až 15 % u variant ošetřených hydrolyzátem.

55

Pokusy v příkladech 5, 6, 7 byly realizovány na základě metodik EPP0 ([www.eppo.org](http://www.eppo.org)):

PP1/135(3) Phytotoxicity assessment

5 PP1/152(3) Design and analysis of efficacy evaluation trial

PP1/181(3) Conduct and reporting of efficacy evaluation trials including good experimental

PP1/153(2) Guideline for the efficacy evaluation of plant growth regulators. Control of lodging and manipulation of canopy structure in rape.

10

#### Příklad 8

Indukce rezistence vůči chorobám u ozimé řepky v laboratorních podmínkách

15 Biologické hydrolyzáty z příkladů 2 (hydrolyzát kolagenu) a 3 (hydrolyzát keratinu) byly aplikovány postřikem na děložní listy řepky ozimé odrůdy Columbus. Výsledkem byla indukce rezistence v děložních listech proti původci fómové hnily, houbovému patogenu *Leptosphaeria maculans*. Postřik děložních listů 2% roztokem hydrolyzátu snižuje rozvoj symptomů choroby (nekróz) na děložních listech až o 61 % (keratinový hydrolyzát K1) a 40 % (hydrolyzovaný kolagen) oproti kontrole ošetřené vodou. Vzhledem k této skutečnosti lze předpokládat, že hydrolyzát kolagenu bude účinný i proti dalším biotrofním patogenům řepky, mezi něž patří *Pyrenopeziza brassicae* a *Peronospora parasitica*.

20

25 Příklad 9

Indukce signální dráhy kyseliny salicylové a rezistence v rostlinách *Arabidopsis thaliana* v laboratorních podmínkách

30 Aplikace biologického hydrolyzátu z příkladu 4 (hydrolyzát C2) v koncentraci 2% postřikem na listy indukuje v rostlinách *A. thaliana* signální dráhu kyseliny salicylové, která spouští obranné mechanismy rostlin. Výsledkem této aktivace bylo úplné zastavení rozvoje infekce v listech bakterie *Pseudomonas syringae*.

35

#### Příklad 10

Antifungální účinek

40 Hydrolyzát kolagenu z příkladu 2 a keratinu z příkladu 3 vykazují také antifungální účinek, V *in vitro* kultuře zpomalují růst mycelia *L. maculans* při koncentraci 0,016 % a vyšší.

45

#### Příklad 11

Zvýšení odolnosti vůči padlí travnímu u pšenice ozimé

Účinky biologického hydrolyzátu z příkladu 1 na výskyt padlí travního (*Blumeria graminis* f.sp. *tritici*) na ozimé pšenici byly shledány v maloparcelkových pokusech v letech 2009 a 2010. Rostliny byly 3x ošetřeny postřikem hydrolyzátu. Ve všech sledovaných letech měl postřik hydrolyzáty ochranný efekt a snížil výskyt padlí až o 65 % při srovnání s neošetřenou kontrolou.

50

## PATENTOVÉ NÁROKY

- 5    **1.** Biostimulátor rostlin na bázi bílkovinných odpadů způsobilý indukovat rezistenci rostlin k chorobám, který je tvořený alkalicky nebo kyselé hydrolyzovanou kolagenní a/nebo keratínovou surovinou, což jsou proteinové odpady z kožedělného, masného, potravinářského, zemědělského nebo obuvnického průmyslu nebo jejich směs, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že má molekulární hmotnost 3000 až 100 000 g.mol<sup>-1</sup>.
- 10    **2.** Biostimulátor podle nároku 1, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že obsahuje enzym jako urychlovač hydrolyzy.
- 15    **3.** Biostimulátor podle nároku 1 nebo 2, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že obsahuje 20 až 40 % hmotnosti sušiny a 14 až 17 % hmotnosti organického dusíku v sušině.
- 20    **4.** Biostimulátor podle nároků 1, 2 nebo 3, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že jako doplněk obsahuje draslík.
- 25    **5.** Biostimulátor podle kteréhokoli z nároků 1 až 4, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že obsahuje fosfor a s výhodou dusík přidáný při hydrolyze.
- 30    **6.** Biostimulátor podle kteréhokoli z nároků 1 až 5, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že obsahuje přídavek dialdehydu škrobu.

---

Konec dokumentu

---