

# PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

## 308 002

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.:

*A01N 65/10* (2009.01)  
*A01N 25/02* (2006.01)  
*A01P 3/00* (2006.01)  
*A01P 15/00* (2006.01)

(19)  
ČESKÁ  
REPUBLIKA



ÚŘAD  
PRŮMYSLOVÉHO  
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2011-842**  
(22) Přihlášeno: **19.12.2011**  
(40) Zveřejněno: **26.06.2013**  
**(Věstník č. 26/2013)**  
(47) Uděleno: **04.09.2019**  
(24) Oznámení o udělení ve věstníku: **16.10.2019**  
**(Věstník č. 42/2019)**

(56) Relevantní dokumenty:  
Journal of Plant Diseases and Protection; 111 (1), 83-95, 2004, ISSN 0340-815; Darcofenews; september 2004; M. Bengtsson et al: "New fungicides for apple scab control in organic growing".  
WO 2009/081211 A.

(73) Majitel patentu:  
Ústav experimentální botaniky Akademie věd  
České republiky, v.v.i., Praha 6, CZ

(72) Původce:  
doc. Ing. Lenka Burketová, CSc., Praha 6, CZ  
Ing. Vendula Hemzalová, Praha 415, CZ  
Ing. Vladimír Šašek, Ph.D., Praha 2, CZ  
Ing. Miroslava Nováková, Praha 7, CZ

(74) Zástupce:  
Ing. Václav Herman, Hlavní 43, 252 43 Průhonice

(54) Název vynálezu:  
**Přípravek pro aktivaci indukované  
rezistence a/nebo její kombinaci s  
fungistatickým účinkem u rostlin a způsob  
jeho přípravy**

(57) Anotace:  
Řešení se týká přípravku na ochranu rostlin na bázi rostlinného extraktu, který vykazuje přímý fungitoxický účinek a je připravený z *Hedera helix* L. Jeden způsob jeho přípravy spočívá v tom, že se nadzemní části *H. helix* L. homogenizují v kapalině, homogenát se extrahuje za teploty nižší než pokojová a extrakt se odstředuje, přičemž se homogenizace provádí ve vodě a před odstředěním se extrakt přefiltruje. Jiný způsob jeho přípravy spočívá v tom, že se nadzemní části *H. helix* L. homogenizují v kapalině, homogenát se extrahuje a extrakt se odstředuje, přičemž se homogenizace provádí v extrakčním činidle, extrakce se provádí za teploty nižší než pokojové a po odstředění se supernatant zahřívá při 60 až 90 °C po dobu 5 až 30 min., centrifuguje a poté se organická fáze odpaří. Pro použití se přípravek ředí ředidlem netoxickým pro rostliny v poměru 1:5 až 1:40 (hmotn./obj.), zejména vodou.

CZ 308002 B6

## **Přípravek pro aktivaci indukované rezistence a/nebo její kombinaci s fungistatickým účinkem u rostlin a způsob jeho přípravy**

### 5 Oblast techniky

Vynález se týká přípravku pro aktivaci indukované rezistence a/nebo její kombinace s fungistatickým účinkem u rostlin, zejména proti houbovým chorobám, na bázi rostlinného extraktu a způsobu jeho přípravy.

10

### Dosavadní stav techniky

V současné době je k dispozici celá řada možností, jak omezit škody způsobené patogeny rostlin. Patří mezi ně přímá chemická a biologická ochrana, konvenční šlechtění na rezistenci, transgenóze a další přímá i nepřímá agrotechnická opatření.

Pro svoji vysokou účinnost a flexibilitu je nejrozšířenější chemická ochrana. Problematický je ale její negativní vliv na životní prostředí, především pak na půdní úrodnost, a nežádoucí působení na necílové organismy, ale také na lidské zdraví. I když jsou veškeré látky před uvedením na trh důkladně testovány na laboratorních zvířatech, epidemiologické studie prokázaly karcinogenní a neurotoxické účinky některých pesticidních látek na základě zvýšeného výskytu souvisejících onemocnění u lidí přicházejících často do přímého styku s těmito látkami. Mnohé pesticidy působí v podmínkách *in vitro* a *in vivo* jako hormonální disruptory a jsou proto dávány do souvislosti se stále se zvyšující neplodností mužů a žen.

Ačkoli jsou všechny tyto skutečnosti obtížně prokazatelné, je nicméně trendem moderního zemědělství úplný zákaz nejrizikovějších látek a celkové omezení používání pesticidů. Zde je pak třeba předpokládané problémy způsobené absencí zakázaných prostředků řešit nalezením bezpečnějších látek nebo pomocí jiných prostředků zahrnujících biologickou ochranu nebo zvýšení genetického potenciálu rostlin.

Ošetření rostlin patogenními i nepatogenními organismy, látkami pocházejícími ze živých organismů i chemikáliemi může v rostlinách vyvolat rezistenci. Zpravidla nedochází k úplné eliminaci patogenu, ale často dojde ke zmírnění příznaků choroby. Tato ošetření zasahují na nejrozličnějších místech do obranného systému rostliny. Některé látky se mohou vázat na receptory, spouštět nebo blokovat signální dráhy, napodobovat signální molekuly. Jejich účinek se může projevit aktivací stejných obranných mechanismů, jako vyvolává napadení patogenem. O induktorech rezistence byla publikována řada prací zahrnujících širokou paletu látek od anorganických solí přes nízkomolekulární organické látky, makromolekuly až po celé organismy. Jejich přehled je uvedený v článku K. Schreiber a D. Desveaux: Message in a bottle: Chemical biology of induced disease resistance in plants. *Plant Pathology Journal* 24: 245–268, 2008 a J. Kúce: Concepts and direction of induced systemic resistance in plants and its application. *European Journal of Plant Pathology* 107: 7–12, 2001.

45

Praktické využití indukované rezistence je zatím u svého zrodu. Četné pokusy prokázaly, že mnoho látek i mikroorganismů snižuje napadení patogeny, avšak ne vždy se tento efekt odrazí na výnosu, protože mnoho induktorů působí při účinných koncentracích fytotoxicky. K nejznámějším induktorům patří benzothiadiazol (BTH). Tato látka působí pravděpodobně jako funkční, analog rostlinného hormonu kyseliny salicylové, klíčového regulátoru obrany rostlin proti biotrofním patogenům. Obě látky indukují shodné obranné mechanismy, ale BTH působí při podstatně nižší koncentraci. BTH v podobě komerčního produktu se prodává pod různými názvy, např. jako Bion 50, WG<sup>TM</sup>, Syngenta, a jeho účinnost byla testována na nejrozličnějších rostlinách proti všem skupinám patogenů. BTH byl prokázán jako účinný induktor rezistence u mnoha plodin, ale z hlediska účinné látky a zátěže na životní prostředí se na něj pohlíží jako na fungicid.

55

Další nevýhodou této látky je její fytotoxicita, která se může projevit v souvislosti s nepříznivým průběhem počasí.

5 Základ vynálezu tak tvoří úkol, výše uvedené nedostatky stavu techniky odstraní, a navrhnout přípravek na ochranu rostlin, zejména proti houbovým chorobám, na bázi rostlinného extraktu, který by měl alespoň srovnatelný účinek na potlačení rozvoje houbových chorob, nebyl by pro rostliny toxický a bylo by jej tudíž možné s výhodou využívat i v biozemědělství.

#### 10 Podstata vynálezu

Výše uvedené nedostatky stavu techniky do značné míry odstraňuje a vytčený úkol řeší přípravek pro aktivaci indukované rezistence a/nebo kombinace indukované rezistence a fungistatického účinku zejména u jednoděložných rostlin pro zvýšení jejich odolnosti vůči houbovým chorobám, 15 především ječmene proti padlí travním vyvolaným *Blumeria graminis* nebo řepky proti fómové hnilobě vyvolané *Leptosphaeria maculans* s nulovou fytotoxicitou, podle vynálezu, jehož podstata spočívá v tom, že jako aktivní složku obsahuje extrakt z rostliny *Hedera helix* L.

Podle vynálezu je výhodné, je-li aktivní složka smíšená s ředidlem netoxickým pro rostliny, 20 zejména s vodou, v poměru 1:5 až 1:40 (hmotn./obj.).

Podstata způsobu přípravy tohoto výše charakterizovaného, účinného přípravku, při kterém se nadzemní části *H. helix* L. homogenizují v kapalině, homogenát se extrahuje a extrakt se odstředí, 25 spočívá podle vynálezu v tom, že se homogenizace provádí ve vodě a před odstředěním se extrakt přefiltruje.

Výhodná provedení tohoto způsobu přípravy pak spočívají podle vynálezu v tom, že se nadzemní části *H. helix* L. homogenizují v destilované vodě v poměru 1:1 až 1:20 (hmotn./obj.), 30 extrahování se provádí po dobu 10 min. až 3 h. při teplotě od 10 do 40 °C a filtrát se odstředí 5 až 30 min. při 5000 až 50 000 g, přičemž uvedené výhodné znaky postupu lze užít jednotlivě nebo v libovolné vzájemné kombinaci.

Podle vynálezu je výhodné, provádí-li se extrahování ve tmě.

35 Jiný způsob přípravy tohoto výše popsaného přípravku, při kterém se nadzemní části *H. helix* L. homogenizují v kapalině, homogenát se extrahuje a extrakt se odstředí, spočívá podle vynálezu v tom, že se části *H. helix* L. homogenizují v extrakčním činidle, extrakce homogenátu se provádí za teploty nižší než pokojové a po odstředění se supernatant zahřívá s prodlevou při teplotě 60 až 90 °C, centrifuguje a poté se organická fáze odpaří.

40 U tohoto způsobu přípravy je podle vynálezu výhodné, použije-li se jako extrakční činidlo 10% až 80% acetonitril s až 1% až 10% kyselinou trifluoroctovou, s nímž je *H. helix* L. pro homogenizaci v poměru 1:1 až 1:10 (hmotn./obj.), extrahuje se po dobu 1 až 6 hodin při teplotě 4 °C, při níž se centrifuguje po dobu 15 min. při 29 000 g, prodleva ohřevu supernatantu je 5 až 45 30 min. a před odpařením organické fáze se supernatant centrifuguje 40 min. při 4000 g a teplotě 4 °C.

Před použitím zahrnuje způsob přípravy přípravku podle vynálezu s výhodou smísení extraktu s ředidlem netoxickým pro rostliny, zejména s vodou, v poměru 1:5 až 1:40 (hmotn./obj.) 50

V užívané kombinované jednotce (hmotn./obj.) je vždy hmotnostní jednotka 1 kg, zatímco objemová jednotka je 1 litr.

55 Ošetření rostlin přípravkem podle vynálezu prokázalo snížení napadení rostlin houbovými chorobami, aktivaci obranných mechanismů a prakticky nulovou fytotoxicitu přípravku.

Příklady uskutečnění vynálezu

5 Vynález bude následně blíže objasněn za pomoci popisu dvou konkrétních výhodných způsobů přípravy přípravku a jeho účinky pak budou dokumentovány na několika příkladech experimentálních aplikací v souvislosti s připojenými vyobrazeními, na kterých představuje:

10 obr. 1 – graf rozvoje kolonií původce *B. graminis* f. sp. *hordei* na listech ječmene při opakovaném ošetření vodou, BTH a extraktem z *H. helix*;

obr. 2 – koncentrační závislost účinku vodného extraktu z *H. helix* na rozvoj padlí travního při ošetření listů ječmene vodou, BTH a extraktem z břečťanu v různých koncentracích;

15 obr. 3 – graf závislosti relativní plochy napadení listu ječmene při ošetření vodou, BTH a *H. helix* na době ošetření před inokulací;

obr. 4 – časovou závislost exprese genů exprimovaných v listech ječmene po napadení patogenem *B. graminis* f. sp. *hordei* resp. ošetření přípravkem z *H. helix*;

20 obr. 5 – porovnání přímého fungitoxického účinku přípravku z *H. helix* na klíčení kolonií *B. graminis* f. sp. *hordei* s použitím vody; a

25 obr. 6 – graf reprezentující porovnání účinku vodného extraktu z *H. helix* na rozvoj nekrotických lézí vyvolaných patogenem *Leptosphaeria maculans* na děložních listech řepky oproti ošetření vodou nebo BTH.

30 Jak bylo naznačeno vpředu, spočívá první způsob přípravy extraktu podle vynálezu v tom, že se čerstvě sklizené listy *H. helix* L. homogenizují v destilované vodě v poměru 1:5 (hmotn./obj.), homogenát se extrahuje 30 minut při pokojové teplotě, s výhodou ve tmě, aby se některé enzymy nerozkládaly, získaný produkt se zfiltruje a filtrát se odstředí 10 minut při 20 000 g.

35 Při druhém způsobu přípravy extraktu se 1 kg. Listů *H. helix* L. důkladně zhomogenizuje v extrakčním činidle 50% acetonitrilu s 1% kyselinou trifluoroctovou v poměru 1:2 (hmotn./obj.), extrahuje se 1,5 h. při 4 °C a centrifuguje 15 min. při 29 000 g a 4 °C. Supernatant se pak zahřívá ve vodní lázni při 75 až 60 °C po dobu 10 až 15 minut a centrifuguje se 40 min. při 4000 g a teplotě 4 °C, načež se odpaří organická fáze.

## Příklad 1

40 Obrázek 1 ukazuje vliv přípravku na napadení rostlin ječmene padlím travním (*B. graminis* f. sp. *hordei*). Rostliny ječmene byly pěstovány za řízených podmínek a ve stádiu 7 nebo 8 dní dle fyziologického stáří ošetřeny extraktem z *H. helix* v koncentraci 1:5 až 1:20 (hmotn./obj.) postřikem. Po dvou dnech od ošetření byly rostliny uměle inokulovány konidii *B. graminis* f. sp. *hordei*. Rozvoj infekce byl vyhodnocen vizuálně 5 dní po inokulaci pomocí bodové škály. Extrakt z *H. helix* statisticky významně snižoval napadení rostlin padlím travním o 20 až 80 % v šesti nezávislých biologických pokusech. Účinek extraktu z *H. helix* byl koncentračně závislý, viz obr. 2, a byl při koncentraci 1:5 (hmotn./obj.) srovnatelný s účinkem chemického induktoru rezistence BTH, viz obr. 1.

50 Příklad 2

Časový interval mezi ošetřením rostlin ječmene přípravkem z *H. helix* a jejich inokulací *B. graminis* f. sp. *hordei* potvrzuje, že je účinek přípravku založený na indukované rezistenci. Rostliny ječmene byly opět pěstovány za řízených podmínek a ve stádiu 7 nebo 8 dní dle

fyziologického stáří byly ošetřeny extraktem z *H. helix* v koncentraci 1:5 (hmotn./obj.) postřikem. Po dvou nebo šesti dnech od ošetření byly rostliny uměle inokulovány sporami *B. graminis* f. sp. *hordei*. Rozvoj infekce byl vyhodnocen vizuálně pět ani po inokulaci pomocí bodové škály. Ošetření rostlin ječmene vodným extraktem z *H. helix* v koncentraci 1:5 (hmotn./obj.) statisticky výrazně snížilo rozvoj padlí travního (patogen *B. graminis* f. sp. *hordei*) i pokud byl přípravek aplikován šest dní před inokulací *B. graminis* f. sp. *hordei*. Tento výsledek ukázaný na obr. 3 potvrzuje, že přípravek působí na principu indukované rezistence.

#### Příklad 3

Obrázek 4 ukazuje vliv přípravku na aktivaci obranných mechanismů v rostlinách ječmene. Rostliny ječmene pěstované opět za řízených podmínek byly ve stádiu 7 nebo 8 dní dle fyziologického stáří ošetřeny vodným extraktem z *H. helix* v koncentraci 1:5 (hmotn./obj.) postřikem nebo uměle inokulovány sporami *B. graminis* f. sp. *hordei*. V časových intervalech 0 h (těsně před ošetřením/inokulací), 4 h, 8 h a 24 h po ošetření/inokulací byly z rostlin odebrány vzorky listů pro analýzu genové exprese. 200 mg vzorku listů bylo použito pro izolaci celkové RNA užitím TRI reagentu (Ambion) a následným ošetřením reverzní transkriptázou MMLV-RT (Promega). Genová exprese byla analyzována pomocí RT-qPCR na přístroji Light Cycler (Roche). S použitím specifických primerů byla sledována exprese obranných genů *CJP121*, *PR3* a *PR4*. Exprese těchto genů byla aktivována jak patogenem samotným, tak postřikem rostlin přípravkem z *H. helix*, což svědčí o indukci obranné reakce v rostlinách ječmene přípravkem z *H. helix* a potvrzuje, že jedním z mechanismů účinku je indukovaná rezistence.

#### Příklad 4

Fungitoxický účinek přípravku z *H. helix* na patogen *B. graminis* f. sp. *hordei* ukazuje obrázek 5. V tomto případě byla podložní mikroskopická skla potažena vrstvou 1% agaru. Z dialyzační membrány byl ustřížen čtverec o velikosti 2x2 cm a membrána byla ponořena do roztoku vodného extraktu *H. helix* v koncentraci 1:5. Po zaschnutí roztoku byla membrána umístěna doprostřed podložního skla na agar, celý preparát byl umístěn pod sedimentační věž a následně byly kolonie *B. graminis* f. sp. *hordei* naneseny na membránu. Poté byly preparáty umístěny do kultivačního boxu s řízenými podmínkami (16 h světlo; 250  $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-2}$ ; 70 % relativní vlhkost, teplota 20 °C). Po 24 hodinách bylo sledováno klíčení kolonií na membráně pomocí světelné mikroskopie. Výsledek je zřejmý z obr. 5. Vodný extrakt *H. helix* v koncentraci 1:5 retarduje vývoj primárních hyf, které jsou ve srovnání s kontrolou kratší a konidie jich díky neúspěšným pokusům vytváří větší množství.

#### Příklad 5

Výsledek účinku přípravku z *H. helix* na snížení rozsahu napadení řepky olejky houbovým patogenem *Leptosphaeria maculans* ukazuje obrázek 6. Semena řepky (cv. Columbus) byla vyseta do perlitu a rostliny pěstovány za řízených podmínek (22 až 24 °C/18 °C, 14 h/10 h, osvětlení 150  $\mu\text{E.m}^2.\text{s}^{-1}$  den/noc) v hydroponické kultuře v živném roztoku podle Steinera (cit. Steiner A.A. (1984) The universal nutrient solution. In: Proceedings of the Sixth International Congress on Soiless Cultur, Luntem. International Society for Soiless Culture, Wageningen: 633–650.) v kultivačním boxu. 11. den po výsevu byly děložní listy rostlin ošetřeny postřikem vodným extraktem *H. helix* v koncentraci 1:5 (hmotn./obj.) a po pěti dnech inokulovány infiltrací konidiami *Leptosphaeria maculans* ( $10^6/\text{ml}$ ). Po dalších 14 dnech byly děložní listy odstříženy, skenovány a pomocí programu APS Assess 2.0 (USA) hodnocena velikost lézí. Postřik přípravkem na bázi vodného extraktu *H. helix* snižoval rozsah lézí vyvolaných *L. maculans* o 69 %.

## Příklad 6

Pro hodnocení fytoxicity přípravku z *H. helix* u ječmene byly rostliny ječmene (téměř izogenní linie P01) pěstovány v komerčním zahradnickém substrátu ve skleníku (v období listopad 2010 až listopad 2011, rozsah teplot 20 až 21 °C). Rostliny ve stáří zpravidla 7 nebo 8 dní dle fyziologického stáří byly ošetřeny postřikem extraktu z *H. helix* v koncentraci 1:5 (hmotn./obj.). Po objevení se příznaků choroby na listech (zpravidla po 5 až 6 dnech od inokulace) byly listy odštířeny, skenovány a hodnocena velikost listové plochy pomocí programu APS Assess 2.0 (USA). Mezi velikostí listové plochy kontrolních rostlin a rostlin ošetřených extraktem *H. helix* nebyl prokázán statisticky významný rozdíl.

## Příklad 7

Pro hodnocení fytoxicity přípravku z *H. helix* u řepky byla semena řepky (cv. Columbus) vyseta do perlitu a rostliny pěstovány v hydroponické kultuře v živném roztoku podle Steiner (cit. Steiner A.A. (1984) The universal nutrient solution. In: Proceedings of the Sixth International Congress on Soilless Cultur, Luntum. International Society for Soilless Culture, Wageningen: 633–650.). 10. den po výsevu byly děložní listy rostlin ošetřeny postřikem extraktem *H. helix* v koncentraci 1:5 (hmotn./obj.) a po dalších 14 dnech byly děložní listy odštířeny, skenovány a pomocí programu APS Assess (USA) hodnocena jejich plocha. Mezi velikostí listové plochy kontrolních rostlin a rostlin ošetřených extraktem *H. helix* nebyl prokázán statisticky významný rozdíl.

## PATENTOVÉ NÁROKY

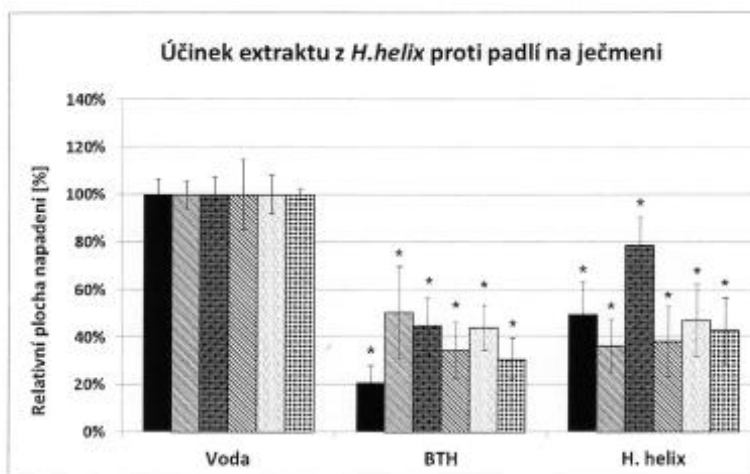
1. Přípravek pro aktivaci indukované rezistence a/nebo kombinace indukované rezistence a fungistatického účinku zejména u jednoděložných rostlin pro zvýšení jejich odolnosti vůči houbovým chorobám, především ječmene proti padlí travním vyvolaným *Blumeria graminis* nebo řepky proti fómové hnilobě vyvolané *Leptosphaeria maculans* s nulovou fytoxicitou, **vyznačující se tím**, že jako aktivní složku obsahuje extrakt z rostliny *Hedera helix* L.
2. Přípravek podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že aktivní složka je smísená s ředidlem netoxickým pro rostliny, zejména s vodou, v poměru 1:5 až 1:40 (hmotn./obj.).
3. Způsob přípravy přípravku podle nároku 1 nebo 2, při kterém se nadzemní části *H. helix* L. homogenizují v kapalině, homogenát se extrahuje a extrakt se odstřeďuje, **vyznačující se tím**, že se homogenizace provádí ve vodě a před odstředěním se extrakt přefiltruje.
4. Způsob přípravy podle nároku 3, **vyznačující se tím**, že se části *H. helix* L. homogenizují v destilované vodě v poměru 1:1 až 1:20 (hmotn./obj.), extrahování se provádí po dobu 10 min až 3 hodin za teploty 10 až 40 °C a filtrát se odstřeďuje 5 až 30 min. při 5000 až 50 000 g.
5. Způsob přípravy podle nároku 3 nebo 4, **vyznačující se tím**, že se extrahování provádí ve tmě.
6. Způsob přípravy přípravku podle nároku 1 nebo 2, při kterém se nadzemní části *H. helix* L. homogenizují v kapalině, homogenát se extrahuje a extrakt se odstřeďuje, **vyznačující se tím**, že se části *H. helix* L. homogenizují v extrakčním činidle, extrakce homogenátu se provádí za teploty nižší než pokojové a po odstředění se supernatant zahřívá s prodlevou při teplotě 60 až 90 °C, centrifuguje a poté se organická fáze odpaří.
7. Způsob přípravy podle nároku 6, **vyznačující se tím**, že se jako extrakční činidlo použije 10% až 80% acetonitril s 1% až 10% kyselinou trifluoroctovou, s nímž je *H. helix* L. pro

homogenizaci v poměru 1:1 až 1:10 (hmotn./obj.), extrahuje se po dobu 1 až 6 hodin při teplotě 4 °C, při níž se centrifuguje po dobu 15 min. při 29000 g, prodleva ohřevu supernatantu je 5 až 30 min. a před odpařením organické fáze se supernatant centrifuguje 40 min. při 4000 g a teplotě 4 °C.

5

8. Způsob přípravy podle nároků 3 až 7, **vyznačující se tím**, že před použitím se přípravek smísí s ředidlem netoxickým pro rostliny, zejména s vodou, v poměru 1:5 až 1:40 (hmotn./obj.).

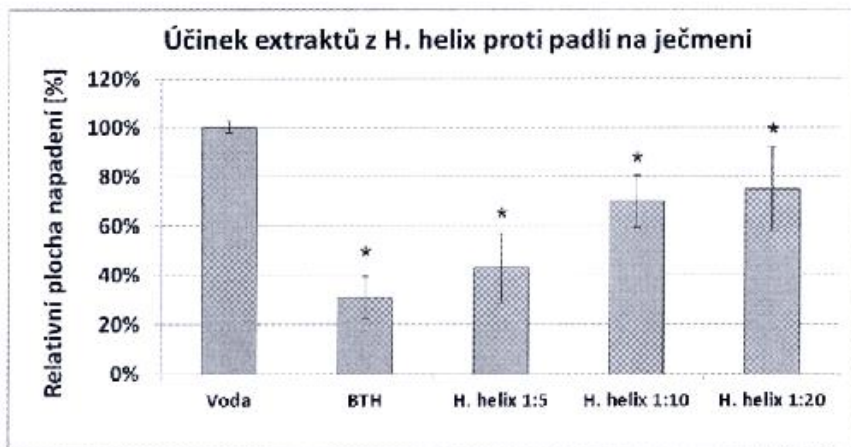
6 výkresů



Účinek vodného extraktu z *H. helix* (1:5, hmotn./obj.) proti padlí travnímu. Graf ukazuje rozvoj kolonií původce *B. graminis* f. sp. *hordei* na primárních listech ječmene. Ošetření vodou, BTH a extraktem z *H. helix*. Sloupce reprezentují 6 biologických opakování. Hvězdičky označují statisticky významný rozdíl od kontrolní varianty ošetřené vodou.

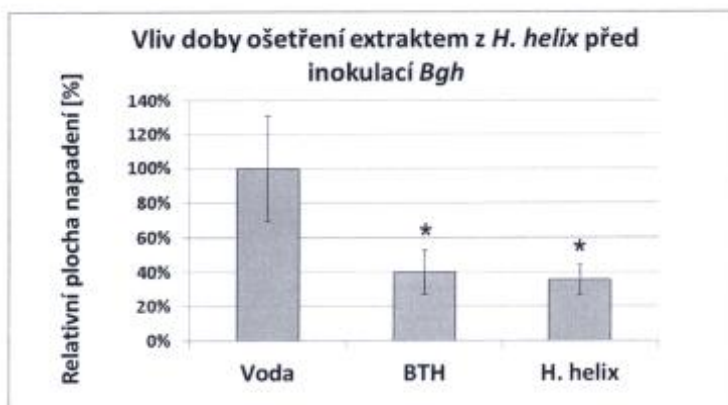
Obr. 1





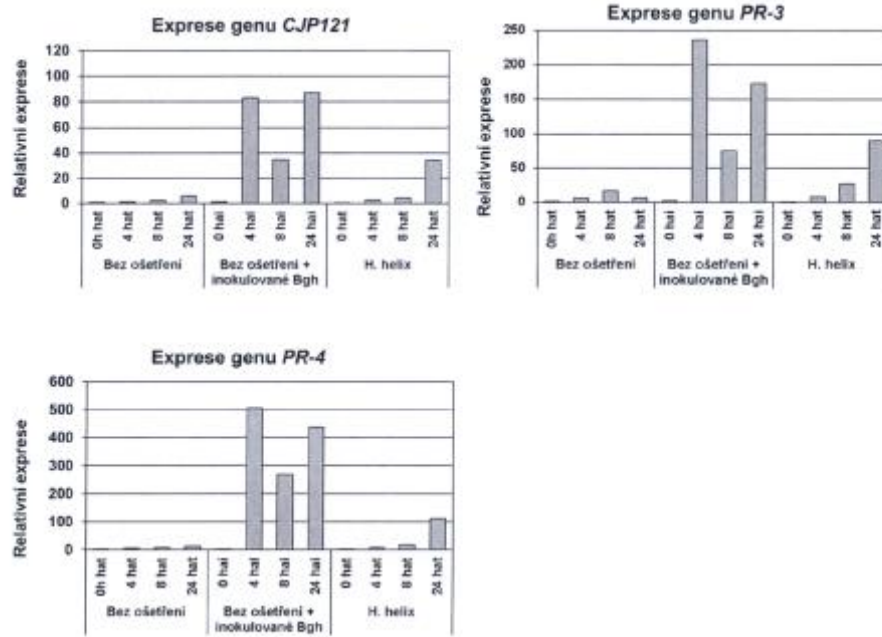
Koncentrační závislost účinku vodného extraktu z *H. helix* na rozvoj padlí travního. Graf ukazuje rozvoj kolonií původce *B. graminis* f. sp. *hordei* na primárních listech ječmene. Ošetření vodou, BTH a extraktem z břečťanu v koncentracích 1:5, 1:10 a 1:20 (hmotn./obj.). Hvězdičky označují statisticky významný rozdíl od kontrolní varianty ošetřené vodou.

Obr. 2



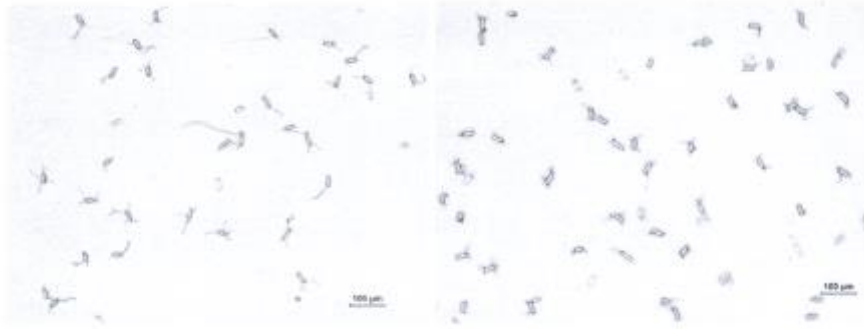
Vliv doby ošetření extraktem z *H. helix* na rozvoj *B. graminis* f. sp. *horde* (*Bgh*). Primární listy ječmene byly ošetřené vodou, BTH a vodným extraktem břečťanu v původní koncentraci (1:5, hmotn./obj.); ošetření bylo provedeno 6 dní před inokulací. Hvězdičky označují statisticky významný rozdíl od kontrolní varianty ošetřené vodou.

Obr. 3



Analýza exprese genů exprimovaných v listech ječmene po napadení patogenem *B. graminis* f. sp. *hordei* nebo přípravkem z *H. helix* v koncentraci 1:5 (hmotn./obj.). (Na ose x jsou hodiny po inokulaci nebo po ošetření).

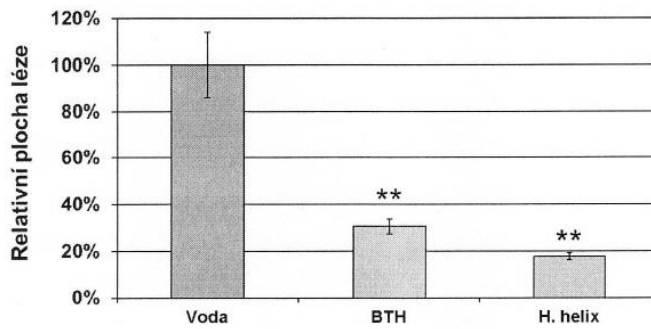
Obr. 4



Přímý fungitoxický účinek přípravku z *H. helix* na klíčení konidií *B. graminis* f. sp. *hordei* na membráně (vlevo kontrola – voda, vpravo přípravek z *H. helix*)

Obr. 5

Účinek extraktu z *H. helix* proti fomové hnilobě  
na řepce



Účinek vodného extraktu z *H. helix* na rozvoj nekrotických lézí vyvolaných patogenem *Leptosphaeria maculans* na děložních listech řepky. Ošetření vodou, BTH a extraktem z *H. helix* (1:5, hmotn./obj.). Sloupce reprezentují 6 biologických opakování. Hvězdičky označují statisticky významný rozdíl.

Obr. 6