



СОЮЗ СОВЕТСКИХ СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ РЕСПУБЛИК

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР
ПО ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТКРЫТИЙ

АВТОРСКОЕ СВИДЕТЕЛЬСТВО

№ 782767

На основании полномочий, предоставленных Правительством СССР, Государственный комитет СССР по делам изобретений и открытий выдал настоящее авторское свидетельство на изобретение:
"Способ подготовки пробы картофеля для определения пораженности фитопатогенной микрофлорой хемилуминесцентным анализом"

Автор (авторы): Кочур Николай Алексеевич, Малыгина Елена Флорентьевна, Эльперин Игорь Владимирович, Черный Адам Маркович, Луцк Владимир Иосифович и Зима Валентин Леонидович

Заявитель: КИЕВСКИЙ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ И КИЕВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. Т. Г. ШЕВЧЕНКО

Заявка №

2360442 Приоритет изобретения 10 мая 1976г.

Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений СССР

1 августа 1980г.
Действие авторского свидетельства распространяется на всю территорию Союза ССР.

Председатель Комитета

Начальник отдела



Государственный комитет
СССР
по делам изобретений
и открытий

О П И С А Н И Е ИЗОБРЕТЕНИЯ

К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

(61) Дополнительное к авт. свид-ву —

(22) Заявлено 10.05.76 (21) 2360442/30-15

с присоединением заявки № —

(23) Приоритет —

Опубликовано 30.11.80. Бюллетень № 44

Дата опубликования описания 30.11.80

(11) 782767

(51) М. Кл.³

А 01 Н 1/04

(53) УДК 575.42
(088.8)

(72) Авторы
изобретения

Н. А. Кочур, Е. Ф. Малыгина, И. В. Эльперин,
А. М. Черный, В. И. Луцык и В. Л. Зима

(71) Заявители

Киевский технологический институт пищевой промышленности
и Киевский государственный университет им. Т. Г. Шевченко

(54) СПОСОБ ПОДГОТОВКИ ПРОБЫ КАРТОФЕЛЯ
ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОРАЖЕННОСТИ ФИТОПАТОГЕННОЙ
МИКРОФЛОРОЙ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНЫМ АНАЛИЗОМ

Изобретение относится к области фитопатологии, в частности к способам определения пораженности клубней картофеля, и может быть использовано в сельском хозяйстве и пищевой промышленности, а также при изучении вопросов генетики, селекции и биологии картофеля.

Известен способ обнаружения фитопатогенного поражения картофеля, при котором водную вытяжку сока картофеля подвергают электролитическому окислению и по уровню возникающего при этом свечения устанавливают наличие фитопатогенного заболевания клубней картофеля [1].

Недостатком известного способа является длительность проведения анализа (4-5 ч), использование для анализа только части клубня, что приводит к неточной диагностике пораженных клубней, особенно на ранних стадиях заболевания. Кроме того, для осуществления известного способа необходимо использовать благородные металлы (платину и золото).

Цель изобретения — устранение указанных недостатков.

Поставленная цель достигается следующим образом.

Из клубней картофеля отжимают сок и разбавляют его дистиллированной водой в соотношении 1:24 соответственно. К полученному раствору последовательно добавляют раствор бензидаина концентрации $2 \cdot 10^{-4}$ М, раствор луминола концентрации $2 \cdot 10^{-7}$ М и рН 12,4-12,8, перекиси водорода, концентрации $7,3 \cdot 10^{-4}$ М и осуществляют хемилюминесцентную реакцию.

По уровню возникающего свечения устанавливают наличие фитопатогенного заболевания клубней картофеля.

Пример. Из целого клубня картофеля на соковыжималке получают сок, фильтруют через несколько (4-5) слоев марли и разбавляют дистиллированной водой в соотношении 1:24. Для одного анализа берут 5 мл разбавленного таким образом сока и добавляют последовательно следующие реактивы:

1,2 мл (2-2,6 мл) $2 \cdot 10^{-4}$ М рабочего раствора бензидаина $\text{NH}_2 \cdot \text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{N}_2$, полученного разбавлением 2 мл исходного $5 \cdot 10^{-3}$ М раствора бензидаина в 50 мл дистиллированной воды, 2,1 мл (0,8-1,2 мл)

$2 \cdot 10^{-4}$ М рабочего раствора луминола в $3,2 \cdot 10^{-2}$ - $4,2 \cdot 10^{-2}$ М NaOH, полу-

ченного разбавлением исходного 0,05 М его раствора.

3·10⁻⁴ мл (8-14 мл) 7,3·10⁻⁴ моль/л раствора перекиси водорода.

Исходный 0,05 М раствор люминола готовят растворением 0,1 г очищенного люминола в 10 мл 5%-ного раствора едкого натра. Срок годности раствора 2 дня.

Рабочий 2·10⁻² М раствор люминола в 3,2·10⁻² - 4,2·10⁻² раствора едкого натра готовят путем разбавления 1 мл исходного 0,05 М раствора люминола в 300 мл 7,3·10⁻⁴ моль/л раствора перекиси водорода с добавлением 9-12 мл 1 н NaOH. pH среды - от 12,4 до 12,6. Срок годности раствора 2 дня.

Исходный раствор бензидина с концентрацией 5·10⁻³ М готовят следующим образом.

В мерную колбу на 200 мл наливают примерно 100 мл дистиллированной воды,

прибавляют 2,3 мл ледяной уксусной кислоты и 184 мг очищенного бензидина. Колбу нагревают на водяной бане при 60 С, постоянно взбалтывая, после водного растворения бензидина добавляют 5,45 г уксуснокислого натрия, охлаждают и доводят дистиллированной водой до метки. Срок годности раствора 6 суток.

По интенсивности возникающего в результате реакции хемилюминесцентного свечения судят о наличии фитопатогенного заболевания клубней картофеля, при этом интенсивность свечения у пораженных клубней в 100-2000 раз выше, чем у непораженных.

Результаты хемилюминесцентного анализа по определению поражения клубней картофеля фитотфторой приведены в таблице. (Сорт Б - Бородинский, Ч - Чаривница, НС - другие сорта и несортовая)

Состояние клубней по данным анализа и визуального обследования	Количество исследованных клубней	Количество импульсов за 30 с			Диагностирование по фитотфторе клубней, шт		
		минимальных	максимальных	среднее арифметическое	здоровые	поражение	под сомнением
Б - здоровый	28	166	12000	1138	28	-	-
Ч - "-	27	129	5000	804	27	-	-
НС- "-	7	42	250	134	7	-	-
Б фитотфторный	31	166000	2657000	1644000	-	28	3
Ч - "-	25	89000	2600000	1422000	-	25	-
НС - "-	3	867000	3148000	2007500	-	3	-
Б - мороженный с фитотфторой	5	294000	1100000	764600	-	5	-
Ч - "-	3	720000	1162000	942000	-	3	-
Б - с механическими повреждениями, фитотфторой	5	1367000	2740000	1836000	-	5	-
Ч - "-	5	716000	1512000	1120400	-	5	-
Б фитотфтора + мокрая гниль	5	8782000	2593000	1603000	-	5	-
Ч - "-	5	947000	1412000	1192400	-	5	-
Б - фитотфтора + сухая гниль	5	343000	2569000	1476800	-	5	-
Ч - "-	5	639000	1927000	1150400	-	5	-
НС-сухая гниль + фитотфтора	1	1825000	1825000	1825000	-	1	-

Состояние клубней по данным анализа и визуального обследования

НС фитотфтор мокрая гниль

Б фитотфтор мокрая и сухая гниль

Б фитотфтор сухая гниль механические повреждения

Б фитотфтор желез. п.

Б мороженный

Ч мороженный

Изобретенные стадии картофеля фитотфторой грибовыми спорами, прилагается в

Способ для определения фитотфторной гнили, что

Продолжение табл.

Состояние клубней по данным анализа и визуального обследования	Количество исследованных клубней	Количество импульсов за 30 с			Диагностирование по фитофторе клубней, шт		
		минимальных	максимальных	среднее арифметическое	здоровые	поражение	под сомнением
НС фитофтора+ мокрая гниль	1	766000	766000	760000	-	1	-
Б фитофтора+ мокрая и сухая гнили	1	872000	872000	872000	-	1	-
Б фитофтора+ сухая гниль+ механические повреждения	4	285000	2848000	1845000	-	4	-
Б фитофтора+ желез.пятнист.	2	1760000	1950000	1855000	-	2	-
Б мороженный	7	165	5000	2075	7	-	-
Ч мороженный	5	59	643	293	5	-	-

Изобретение позволяет выявить ранние стадии пораженности клубней картофеля фитофторой, а также другими грибковыми и бактериальными заболеваниями, при этом сам анализ осуществляется в течение 3-4 мин.

формула изобретения

Способ подготовки пробы картофеля для определения пораженности фитопатогенной микрофлорой хемилюминесцентным анализом, отличающийся тем, что, с целью сокращения продолжи-

тельности анализа и повышения точности, из клубней картофеля отжимают сок, разбавляют его дистиллированной водой в соотношении 1:24 соответственно и последовательно добавляют раствор бензидаина концентрации $2 \cdot 10^{-4}$ М, раствор люминола концентрации $2 \cdot 10^{-4}$ М и рН 12,4-12,8, раствор перекиси водорода концентрации $7,3 \cdot 10^{-4}$ моль/л.

Источники информации, принятые во внимание при экспертизе
1. Авторское свидетельство СССР № 402352, кл.А 01 Н 1/04, 1972 (прототип).

Составитель Л.Мишустина

Редактор Т.Никольская

Техред М.Табакович

Корректор О.Ковинская

Заказ 8407/3

Тираж 723

Подписное

ВНИИПИ Государственного комитета СССР
по делам изобретений и открытий

113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д.4/5

филиал ППП "Патент", г.Ужгород, ул.Проектная,4