



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 602 02 036 T2** 2005.11.10

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 297 746 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **602 02 036.0**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **02 256 614.5**

(96) Europäischer Anmeldetag: **24.09.2002**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **02.04.2003**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **24.11.2004**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **10.11.2005**

(51) Int Cl.7: **A01N 63/04**

C12N 11/00, C12R 1/79, A01H 15/00,

C12N 1/14

(30) Unionspriorität:

2001293406 26.09.2001 JP

(73) Patentinhaber:

Sumitomo Chemical Co. Ltd., Tokio/Tokyo, JP

(74) Vertreter:

Vossius & Partner, 81675 München

(84) Benannte Vertragsstaaten:

AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LI, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR

(72) Erfinder:

**Shimizu, Susumu, Koga-shi, Fukuoka, JP;
Isayama, Shinji, Takarazuka-shi, Hyogo, JP; Nitta,
Eiji, Nishinomiya-shi, Hyogo, JP**

(54) Bezeichnung: **Entomopathogener Pilz zur Verwendung als Insektizide**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

Fachgebiet

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft einen Pilz, der entomopathogenetisch insektizid auf Schadinsekten wirkt und zur Gattung *Paecilomyces* gehört.

Stand der Technik

[0002] Auf dem Fachgebiet der insektiziden Mittel wurden insektizide Mittel entwickelt, in denen synthetische insektizide Verbindungen verwendet werden, und insektizide Mittel, deren Ursprung ein Mikroorganismus ist.

[0003] Vordem wurden mehrere Recherchen nach einem entomopathogenetischen Pilz durchgeführt, wobei enttäuschenderweise ein entomopathogenetischer filamentöser Pilz gefunden wurde, der eine unzureichende insektizide Wirkung aufwies. Typischerweise stellten solche bekannten entomopathogenen Pilze ein enges insektizides Spektrum bereit.

Zusammenfassung der Erfindung

[0004] Die vorliegende Erfindung stellt eine biologisch reine Kultur von *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861 bereit, sowie insektizide Mittel, Verfahren und Verwendungen. Die insektiziden Mittel umfassen eine insektizid wirksame Menge von *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861. Die Verfahren umfassen das Aufbringen von *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861 auf mindestens eine Stelle ausgewählt aus einem Schadinsekt, einem Lebensraum des Schadinsekts und einer für das Schadinsekt anfälligen Pflanze. Die Verwendungen sind Verwendungen von *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861 zur Bekämpfung eines Schadinsekts.

[0005] Fukatsu, T. et al., *Journal of Invertebrate Pathology* (1997) 70: 203–208, offenbaren die Isolierung eines entomogenen Pilzes *Paecilomyces tenuipes*, die Beimpfung von Wirtsinsekten mit diesem Pilz und dessen molekulare Phylogenese.

[0006] Die Patentanmeldung WO 90 10388 A (UNIV FLORIDA), veröffentlicht am 20. September 1990, offenbart die Verwendung von *Paecilomyces fumosoroseus* als Biopestizid zur Bekämpfung von Weißen Fliegen und anderen Schädlingen.

[0007] Sung, J.-M. et al., *Korean Journal of Mycology* (1995) 23: 92–104, offenbart, dass *Paecilomyces tenuipes*, ein Imperfektstadium der Gattung *Cordyceps*, ein multiinfektiöser Pilz ist, der alle Stadien aller Gruppen von Insekten befällt.

Detaillierte Beschreibung der Erfindung

[0008] Zunächst sind nachstehend die taxonomischen Eigenschaften von *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861 beschrieben.

(1) Wachstumsrate (25°C, 7 Tage)

Koloniedurchmesser: 25–30 mm (Platte mit 2% Maltoseextrakt-Agarmedium), 25–30 mm (Platte mit Hafermehl-Agarmedium)

(2) Farbe der Vorderoberfläche der Kolonie

weiß (Platte mit 2% Maltoseextrakt-Agarmedium), weiß (Platte mit Hafermehl-Agarmedium)

(3) Farbe der Unteroberfläche der Kolonie

weiß (Platte mit 2% Maltoseextrakt-Agarmedium), weiß bis leicht gelb (Platte mit Hafermehl-Agarmedium)

(4) Struktur der Vorderoberfläche der Kolonie

wollartig bis daunenartig

(5) Conidiophor

Verzweigung mit glatter Oberfläche und unstrukturierter Wirtel

(6) Conidium

elliptische bis kreisförmige Verkettung mit glatter Oberfläche, etwa 4 µm × etwa 2 µm

(7) Chlamydosporium

keines (25°C, 9-Tage-Periode)

(8) Nucleotidsequenz der DNA, welche die nucleäre 5,8S ribosomale RNA codiert und Nucleotidsequenz der DNA, welche die nucleäre 28S ribosomale RNA codiert

die Nucleotidsequenz der DNA, welche die nucleäre 5,8S ribosomale RNA codiert, ist in SEQ ID Nr: 1 gezeigt und die Nucleotidsequenz der DNA, welche die nucleäre 28S ribosomale RNA codiert, ist in SEQ ID Nr: 2 gezeigt.

[0009] Suchen in der Datenbank für entomopathogenetische Pilze mit einer Homologiesuche mit der Nucleotidsequenz der DNA, welche die nucleäre 5,85 ribosomale RNA codiert, und der Nucleotidsequenz der DNA, welche die nucleäre 28S ribosomale RNA codiert, zeigen, dass *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861 der Art *Paecilomyces tenuipes* zugeordnet wird (verwendete Datenbank: GenBank, verwendetes Programm: BLAST (Basic Local Alignment Search Tool), National Center for Biotechnology Information).

[0010] *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861 wurde hinterlegt beim National Institute of Advanced Industrial Science and Technology International Patent Organism Depository, und als Zugangsnummer wurde FERM BP-7861 zugeteilt.

[0011] Als Nächstes werden die erfindungsgemäßen insektiziden Mittel beschrieben.

[0012] Die erfindungsgemäßen insektiziden Mittel umfassen eine insektizid wirksame Menge von *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861. In den erfindungsgemäßen insektiziden Mitteln sind typischerweise lebende Pilzzellen von *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861 vorhanden. Als lebende Pilzzelle von *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861 wird zum Beispiel dessen Conidium, dessen Blastosporus und dessen Hyphe bezeichnet. Die erfindungsgemäßen insektiziden Mittel können das Conidium, den Blastosporus oder die Hyphe unabhängig oder in einer Mischung verwenden.

[0013] *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861 kann hergestellt werden, auch in großen Mengen, durch Züchten von *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861 in einem flüssigen Kulturmedium oder einem festen Kulturmedium.

[0014] Das zum Züchten von *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861 verwendete Kulturmedium ist nicht beschränkt sofern das Kulturmedium das Wachstum von *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861 erlaubt. Zum Beispiel können Kulturmedien verwendet werden, die herkömmlicherweise zum Züchten von Mikroorganismen verwendet werden. Derartige herkömmliche Kulturmedien enthalten geeigneterweise eine Kohlenstoffquelle, eine Stickstoffquelle und ein Salz (wie ein organisches Salz oder ein anorganisches Salz). Typischerweise sind derartige herkömmliche Kulturmedien flüssige Kulturmedien oder feste Kulturmedien.

[0015] Das flüssige Kulturmedium kann gewöhnlich hergestellt werden durch geeignetes Mischen von Wasser mit der Kohlenstoffquelle, der Stickstoffquelle, dem Salz und so weiter.

[0016] Als Kohlenstoffquelle im flüssigen Kulturmedium sind zum Beispiel Zucker wie Glucose, Dextrin oder Saccharose; Zuckeralkohole wie Glycerol; organische Säuren wie Fumarsäure, Citronensäure und Brenzhaubensäure; tierische Öle; pflanzliche Öle; Molassen und dergleichen zu nennen. Die Menge der im Kulturmedium enthaltenen Kohlenstoffquelle liegt gewöhnlich bei 0,1 bis 20% (w/v).

[0017] Als Stickstoffquelle im flüssigen Kulturmedium sind zum Beispiel natürlich vorkommende Stickstoffquellen wie Fleischextrakt, Pepton, Hefeextrakt, Malzextrakt, Sojabohnenpulver, Maisquellwasser, Baumwollsamenspulver, getrocknete Hefe und Casaminoinsäure; Ammoniumsalze oder Nitrate anorganischer Säuren wie

Natriumnitrat, Ammoniumchlorid, Natriumsulfat und Ammoniumphosphat; Ammoniumsalze organischer Säuren wie Ammoniumfumarat und Ammoniumcitrat; Harnstoff; Aminosäuren und dergleichen zu nennen. Die Menge der im Kulturmedium enthaltenen Stickstoffquelle liegt gewöhnlich bei 0,1 bis 30% (w/v).

[0018] Als organisches oder anorganisches Salz im flüssigen Kulturmedium sind zum Beispiel Chloride, Sulfate, Nitrate, Acetate, Carboxylate oder Phosphate von Kalium, Natrium, Magnesium, Calcium, Eisen, Mangan, Kobalt, Zink, und dergleichen zu nennen. Noch spezifischer sind zum Beispiel Natriumchlorid, Kaliumchlorid, Magnesiumsulfat, Eisen-(I)-Sulfat, Mangansulfat, Kobaltchlorid, Zinksulfat, Kupfersulfat, Natriumacetat, Calciumcarboxylat, Natriumcarboxylat, Kaliumphosphat-Monohydrat, Kaliumphosphat-Dihydrat und dergleichen zu nennen. Die Menge des im Kulturmedium enthaltenen anorganischen oder organischen Salzes liegt gewöhnlich bei 0,0001 bis 5% (w/v).

[0019] Als spezifischere Beispiele für flüssige Kulturmedien, die verwendet werden, um *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861 zu züchten, sind Flüssigmedium mit 2% Maltoseextrakt, Hafermehl-Flüssigmedium, Kartoffel-Dextrose-Flüssigmedium, Sabouraud-Flüssigmedium, L-Broth-Flüssigmedium und dergleichen zu nennen.

[0020] Als feste Kulturmedien sind zum Beispiel Getreide wie Reis, Weizen, Mais, Hirse, Hühnerhirse, Kaoliang und Buchweizen und deren Mischungen zu nennen sowie Medien die als Hauptbestandteil Sägemehl, Bagasse, Reisschalen, Erbsen, Stroh, Maiskolben oder Baumwollsaamen-Bodensatz enthalten, mit, wenn nötig, Reiskleie, Maiskleie, Maisquellwasser, Hefepulver, Weizenkleie, Aminosäuren, Sojamehl, Weizenmehl, Tofu-Ausschuß, Glucose, Maltoseextrakt, Mineralien (Kalium-(I)-phosphat, kohlenstoffhaltige Kohle, Calciumsulfat, Magnesiumsulfat und dergleichen) oder Vitaminen (wie Thiamin) und Medien, die als Träger ein poröses Material wie Tonmineralien oder natürlich vorkommende Makromoleküle wie Agar und Gelatine enthalten, mit der Kohlenstoffquelle, der Stickstoffquelle oder dem Salz, die verwendet werden für die vorstehend genannten flüssigen Kulturmedien und dergleichen.

[0021] Als speziellere Beispiele des für die Züchtung von *Paecilomyces tenuipes* verwendeten festen Kulturmediums sei 2% Maltoseextrakt-Agarmedium, Hafermehl-Agarmedium, Kartoffeldextrose-Agarmedium, Sabouraud-Agarmedium, L-Broth-Agarmedium und ähnliches erwähnt.

[0022] Die Züchtung von *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861 kann durchgeführt werden mit Verfahren, die herkömmlicherweise zum Züchten von Mikroorganismen verwendet werden.

[0023] Als Flüssigkulturverfahren sind zum Beispiel die Teströhrchen-Schüttelkultur, die Reziprok-Kultur, der Glasfermenter, die Tankkultur und dergleichen zu nennen.

[0024] Als Kulturverfahren mit festem Medium ist zum Beispiel die stationäre Kultur zu nennen.

[0025] Die Bedingungen zum Züchten von *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861 mit dem flüssigen oder festen Kulturmedium sind wie folgt. Die Züchtungstemperatur kann geeigneterweise in einem Bereich schwanken, der es einem Mikroorganismus erlaubt zu wachsen, ist aber typischerweise ein Bereich von etwa 15°C bis 35°C. Der pH-Wert des flüssigen oder festen Kulturmediums ist üblicherweise im Bereich von etwa 5 bis 7. Die Züchtungsdauer kann sich mit den Züchtungsbedingungen ändern, liegt aber gewöhnlich im Bereich von etwa einem Tag bis etwa zwei Monate.

[0026] Nach der Züchtung mit Flüssigmedium kann *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861 erhalten werden mit einem Verfahren, bei dem das flüssige Kulturmedium, in dem *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861 gezüchtet wurde, zentrifugiert wird. Nach Züchtung mit festem Kulturmedium kann *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861 erhalten werden mit einem Verfahren, bei dem destilliertes Wasser auf das feste Kulturmedium, auf dem *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861 gezüchtet wurde, gegeben wird und *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861 dann von der Oberfläche abgekratzt wird.

[0027] Die erfindungsgemäßen insektiziden Mittel können *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861 unabhängig verwenden, können aber außerdem einen festen Träger, einen flüssigen Träger oder dergleichen enthalten, um *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861 zu formulieren. Wenn nötig, kann den erfindungsgemäßen insektiziden Mitteln ein Formulierungsadjuvans wie ein Surfactant, ein wasserspeicherndes Mittel und dergleichen zugegeben sein.

[0028] In derartigen Fällen der Formulierung können die erfindungsgemäßen insektiziden Mittel als feste For-

mulierung, wie ein Granulum, Staub und benetzbares Pulver, oder als flüssige Formulierung wie ein emulgierbares Konzentrat, eine strömungsfähige, ölige Formulierung und dergleichen formuliert sein.

[0029] In derartigen Formulierungen ist *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861 typischerweise in einer Menge von etwa 10^3 bis 10^5 CFU („colony forming unit“, koloniebildende Einheit) pro Gramm des erfindungsgemäßen insektiziden Mittels vorhanden.

[0030] Als feste Träger zur Formulierung sind zum Beispiel Tone wie Serit, Porzellanerde, Diatomeenerde, synthetisch hydratisiertes Siliconoxid, Bentonit, Fubasami-Erde, und saure Erde; Talke; Keramiken; andere anorganische Mineralien; organische Materialien wie Torfmoos, Pulpe, Agar und Kleie und dergleichen zu nennen.

[0031] Als flüssige Träger sind Wasser, aliphatische Kohlenwasserstoffe, wie Hexan, Kerosin und Lampenöl; Gartenbauöle wie Maschinenöl; Pflanzenöle wie Sojaöl und Baumwollsaamenöl und dergleichen zu nennen.

[0032] Als Surfactants sind zum Beispiel Alkylschwefelsäureester; Alkylsulfonsäuresalze; Alkylarylsulfonsäuresalze; Alkylarylether; Polyoxyethylenalkylether von Alkylarylethern; Polyoxyethylenalkylester von Alkylarylethern; Polyoxyethylenalkylphenylether; Polyoxyethylenalkylphenylester; Polyoxyethylenfettsäureester; Polyoxyethylensorbitanfettsäureester; Polyethylenglycoether; mehrwertige Alkoholester; Zuckeralkohole und dergleichen zu nennen.

[0033] Als wasserspeichernde Mittel sind zum Beispiel adhäsive Zucker wie Carrageen, Xanthangummi, Natriumalginsäure, Carboxymethylcellulose und Natriumhydroxyethylcellulose; adhäsive, synthetische, wasserlösliche Polymere wie Natriumpolyacrylsäure, Polyethylenimin, Polyvinylalkohol, Polyethylenoxid und Polyvinylpyrrolidon; adhäsive tierische Polymere wie Natriumchondroitinschwefelsäure, Casein und Gelatine; mehrwertiger Alkohol wie Glycerin und Ethylenglycol und dergleichen zu nennen.

[0034] Als Schadinsekten, auf die *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861 wirkt, sind die folgenden Schadinsekten zu nennen.

[0035] Lepidoptera: Pyralidae wie der Reisstengelbohrer (*Chilo suppressalis*), der Reiswickler (*Cnaphalocrocis medinalis*); Noctuidae wie die Kohleule (*Mamestra brassicae*), der Baumwollkapselwurm (*Helicoverpa armigera*), *Autographa nigrisigna*; Pieridae wie die Gemeine Kohllarve (*Pieris rapae*); Yponomeutiden (Yponomeutidae) wie die Kohlmotte (*Plutella xylostella*); Trägspinner (Lymantriidae) wie *Euptoctis taiwana*, der Schwammspinner (*Lymantria dispar*), *Euproctis similis*; Schneckenspinner (Limacodidae) wie *Scopelodes contracus*; Lasiocampidae wie *Dendrolimus spectabilis* und dergleichen.

[0036] Hemiptera: Blattläuse (Aphididae) wie die Baumwollblattlaus (*Aphis gossypii*), die grüne Pfirsichblattlaus (*Myzus persicae*) und *Lipaphis pserudobrassicae*; Weiße Fliegen (Aleyrodidae) wie die Mottenschildlaus (*Trialeurodes vaporariorum*), die Weiße Fliege (*Bemisia tabaci*), *Bemisia argentifolli* und dergleichen.

[0037] Diptera: Echte Fliegen (Muscidae) wie die Stubenfliege (*Musca domestica*); Stechmücken (Culicidae) wie die gemeine Stechmücke (*Culex pipiens pallens*) und dergleichen.

[0038] Thripidae: *Thrips palmi*, *Frankliniella occidentalis* und dergleichen.

[0039] Isoptera: *Reticulitermes speratus*, die Formosa-Termite (*Coptotermes formosanus*) und dergleichen.

[0040] Das erfindungsgemäße insektizide Verfahren wird typischerweise durchgeführt durch Aufbringen einer insektizid wirksamen Menge des erfindungsgemäßen Mittels auf eine Stelle ausgewählt aus dem Schadinsekt, einem Lebensraum des Schadinsekts oder einer für das Schadinsekt anfälligen Pflanze. Zum Beispiel können die erfindungsgemäßen insektiziden Mittel auf eine Feldfrucht aufgebracht werden, um diese vor dem Schadinsekt zu schützen.

[0041] Beim Aufbringen des erfindungsgemäßen insektiziden Mittels liegt die Aufbringungsmenge für 1000 m² gewöhnlich bei 10^5 bis 10^{19} CFU, vorzugsweise bei 10^7 bis 10^{17} CFU. Das emulgierbare Konzentrat, das benetzungsfähige Pulver und das fließfähige werden typischerweise verdünnt, so dass die Konzentration des erfindungsgemäßen Pilzkörpers bei 10^3 bis 10^{12} CFU/ml liegt, und das Granulat wird gewöhnlich direkt aufgebracht.

[0042] Die erfindungsgemäßen insektiziden Verbindungen können für Laub verwendet werden, wobei ein erfindungsgemäßes insektizides Mittel auf eine für ein Schadinsekt anfällige Pflanze aufgebracht wird, um die Pflanze vor dem Schadinsekt zu schützen. Außerdem können die erfindungsgemäßen insektiziden Mittel verwendet werden durch Aufbringen der erfindungsgemäßen insektiziden Mittel auf ein Saatbeet vor dem Bepflanzen oder auf den Pflanzenfuß nach dem Pflanzen.

Beispiele

[0043] Die vorliegende Erfindung wird anhand der folgenden Beispiele genauer beschrieben, ist jedoch nicht auf diese Beispiele beschränkt.

Herstellungsbeispiel

[0044] *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861, zuvor gezüchtet in Kartoffel-Dextrose-Agarmedium, wurde auf Kartoffel-Dextrose-Agarmedium (Durchmesser 90 mm × Tiefe 10 mm) geimpft. *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861 wurde dann unter stationären Kulturbedingungen für 14 Tage unter Fluoreszenzlichtexposition für 14 Stunden/Tag bei 25°C gezüchtet. Die Pilzzellen, die auf dem Agarmedium gebildet wurden (einschließlich vieler Conidien), wurden geerntet durch Abkratzen mit 10 ml einer Lösung von 0,03% Spreader (Lino, Nihon Nohyaku Co.) gelöst in destilliertem Wasser. Die resultierende Lösung wurde mit 0,03% Spreader weiter verdünnt, um eine Testflüssigkeit von *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861 herzustellen.

Referenzbeispiel

[0045] *Paecilomyces tenuipes* ATCC-44818, *Isaria japonica* IFO 30367 und *Isaria japonica* IFO-31161 wurden jeweils ähnlich wie im vorstehenden Herstellungsbeispiel als Testflüssigkeiten hergestellt.

[0046] *Isaria japonica* wird der Klasse *Paecilomyces tenuipes* zugeordnet (zum Beispiel: Plant Protection, Sonderausgabe Nr. 2, „Manual for the Researches on Insect Pathologes“, herausgegeben von der Japan Plant Protection Association).

Testbeispiel 1

[0047] In einen Plastikbehälter mit einem Durchmesser von 6 cm und einer Höhe von 3 cm wurde ein Filterpapier mit einem Durchmesser von 5 cm gelegt. Nachfolgend wurden 0,6 ml der *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861-Testflüssigkeit zugegeben. Danach wurden 0,5 g Saccharose und 10 adulte Stubenfliegen in den Behälter gegeben und dieser wurde verschlossen. Nach 4 Tagen wurde die Anzahl toter und lebendiger Fliegen ermittelt und die Mortalität wurde bestimmt (3 Wiederholungen).

[0048] Außerdem wurden als Vergleichsbeispiele die Testflüssigkeiten, die mit dem unter „Referenzbeispiel“ beschriebenen Verfahren hergestellt worden waren, in ähnlicher Weise verwendet, um jeweils die Anzahl toter und lebendiger Fliegen zu ermitteln und die Mortalität zu bestimmen.

[0049] Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 gezeigt.

Tabelle 1

Getesteter Pilzstamm	Konzentration der Pilzzellen (CFU/ml)	Mortalität (%)
<i>Paecilomyces tenuipes</i> T1 FERM BP-7861	1 x 10 ⁸	97
<i>Paecilomyces tenuipes</i> ATCC-44818	1 x 10 ⁸	10
<i>Isaria japonica</i> IFO 30367	1 x 10 ⁸	0
<i>Isaria japonica</i> IFO-31161	3 x 10 ⁸	3
unbehandelt (0,03 % Spreader)		0

Testbeispiel 2

[0050] Kohlpflanzen wurden in Plastikbehälter gepflanzt und durften drei Wochen wachsen. Die *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861-Testflüssigkeit wurde auf die Kohlpflanzen gesprüht (10 ml/Topf). Nachdem die Kohlpflanzen getrocknet waren, wurden 10 Kohlmottenlarven im dritten Larvenstadium auf jeder Kohlpflanze ausgesetzt. Nach 5 Tagen wurde die Anzahl toter und lebendiger Schadinsekten ermittelt und die Mortalität wurde bestimmt (3 Wiederholungen).

[0051] Außerdem wurden als Vergleichsbeispiele die Testflüssigkeiten, die mit dem unter „Referenzbeispiel“ beschriebenen Verfahren hergestellt worden waren, in ähnlicher Weise verwendet, um jeweils die Anzahl toter und lebendiger Schadinsekten zu ermitteln und die Mortalität zu bestimmen.

[0052] Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 gezeigt.

Tabelle 2

Getesteter Pilzstamm	Konzentration der Pilzzellen (CFU/ml)	Mortalität (%)
<i>Paecilomyces tenuipes</i> T1 FERM BP-7861	1 x 10 ⁷	74
<i>Paecilomyces tenuipes</i> ATCC-44818	3 x 10 ⁷	40
<i>Isaria japonica</i> IFO 30367	1 x 10 ⁷	10
<i>Isaria japonica</i> IFO-31161	5 x 10 ⁷	14
unbehandelt (0,03 % Spreader)		0

Testbeispiel 3

[0053] Baumwollkapselwurm-Larven im dritten Larvenstadium wurden für 10 Sekunden in die *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861-Testflüssigkeit, die gemäß dem unter „Herstellungsbeispiel“ beschriebenen Verfahren hergestellt worden war, getaucht. In Plastikbehälter mit einem Durchmesser von 6 cm und einer Höhe von 3 cm wurden Filterpapiere mit einem Durchmesser von 5 cm eingelegt. Nachfolgend wurde jeweils eines der vorstehenden Test-Schadinsekten und ein Kohlblatt zugegeben. Der Behälter wurde dann verschlossen. Nach sieben Tagen wurde die Anzahl toter und lebendiger Schadinsekten ermittelt und die Mortalität bestimmt (10 Wiederholungen).

[0054] Außerdem wurden als Vergleichsbeispiele die Testflüssigkeiten, die mit dem unter „Referenzbeispiel“ beschriebenen Verfahren hergestellt worden waren, in ähnlicher Weise verwendet, um jeweils die Anzahl toter und lebendiger Schadinsekten zu ermitteln und die Mortalität zu bestimmen.

[0055] Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 gezeigt.

Tabelle 3

Getesteter Pilzstamm	Konzentration der Pilzzellen (CFU/ml)	Mortalität (%)
<i>Paecilomyces tenuipes</i> T1 FERM BP-7861	1 x 10 ⁷	80
<i>Paecilomyces tenuipes</i> ATCC-44818	3 x 10 ⁷	60
<i>Isaria japonica</i> IFO 30367	1 x 10 ⁷	0
<i>Isaria japonica</i> IFO-31161	7 x 10 ⁷	10
unbehandelt (0,03 % Spreader)		0

Testbeispiel 4

[0056] Gurken wurden in Plastikbehälter gepflanzt. Nachdem die Gurken für 2 Wochen gewachsen waren,

wurden pro Topf fünf weibliche Baumwoll-Blattläuse ausgesetzt. Auf die Gurken wurden pro Topf 10 ml der *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861-Testflüssigkeit gesprüht. Nach acht Tagen wurde die Anzahl toter und lebendiger Schadinsekten ermittelt und der korrigierte Populationsdichteindex wurde anhand der folgenden Gleichung bestimmt.

[0057] Außerdem wurden als Vergleichsbeispiele die Testflüssigkeiten, die mit dem unter „Referenzbeispiel“ beschriebenen Verfahren hergestellt worden waren, in ähnlicher Weise verwendet, um jeweils die Anzahl toter und lebendiger Schadinsekten zu ermitteln und die Mortalität zu bestimmen.

Korrigierter Populationsdichteindex = $\{(A \times b)/(B \times a)\} \times 100$

A: Anzahl lebendiger Schadinsekten in den unbehandelten vor Applikation

B: Anzahl lebendiger Schadinsekten in den unbehandelten acht Tage nach Applikation

C: Anzahl lebendiger Schadinsekten in den behandelten vor Applikation

D: Anzahl lebendiger Schadinsekten in den behandelten acht Tage nach Applikation

[0058] Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 gezeigt.

Tabelle 4

Getesteter Pilzstamm	Konzentration der Pilzzellen (CFU/ml)	Korrigierter Populationsdichteindex
<i>Paecilomyces tenuipes</i> T1 FERM BP-7861	1 x 10 ⁷	2
<i>Paecilomyces tenuipes</i> ATCC-44818	3 x 10 ⁷	43
<i>Isaria japonica</i> IFO 30367	1 x 10 ⁷	35
<i>Isaria japonica</i> IFO-31161	5 x 10 ⁷	76
unbehandelt (0,03 % Spreader)		100

Testbeispiel 5

[0059] 10 unterirdisch lebende Formosa-Termiten wurden für 10 Sekunden in 1,5 ml *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861-Testflüssigkeit, die gemäß dem unter „Herstellungsbeispiel“ beschriebenen Verfahren hergestellt worden war, getaucht. Die Formosa-Termiten wurden mit der Testflüssigkeit in eine runde Petrischale gegossen (Durchmesser 90 mm, Höhe 15 mm), in die ein Filterpapier mit einem Durchmesser von 82 mm gelegt war. Nach sieben Tagen wurde die Anzahl toter und lebendiger Schadinsekten ermittelt und die Mortalität wurde bestimmt (3 Wiederholungen).

[0060] Außerdem wurden als Vergleichsbeispiele die Testflüssigkeiten, die mit dem unter „Referenzbeispiel“ beschriebenen Verfahren hergestellt worden waren, in ähnlicher Weise verwendet, um jeweils die Anzahl toter und lebendiger Schadinsekten zu ermitteln und die Mortalität zu bestimmen.

[0061] Die Ergebnisse sind in Tabelle 5 gezeigt.

Tabelle 5

Getesteter Pilzstamm	Konzentration der Pilzzellen (CFU/ml)	Mortalität (%)
<i>Paecilomyces tenuipes</i> T1 FERM BP-7861	1 x 10 ⁸	100
<i>Paecilomyces tenuipes</i> ATCC-44818	1 x 10 ⁸	3
<i>Isaria japonica</i> IFO 30367	1 x 10 ⁸	0
<i>Isaria japonica</i> IFO-31161	3 x 10 ⁸	6
unbehandelt (0,03 % Spreader)		0

[0062] Die vorstehenden Ergebnisse der Testbeispiele 1 bis 5 beweisen, dass *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861 eine hervorragende insektizide Wirkung bereitstellt, und dass *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861 ein breites insektizides Spektrum aufweist.

SEQUENZAUF LISTUNG

<110> Sumitomo Chemical Co., Ltd.

<120> Entomopathogener Pilz zur Verwendung als Insektizid

<130> N.86813 TAC/TJD

<140> 02256614.5

<141> 2002-09-24

<150> JP 2001/293406

<151> 2001-09-26

<160> 2

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 156

<212> DNA

<213> *Paecilomyces tenuipes*

<400> 1

```
aactttcaac aacggatctc ttggttctgg catcgatgaa gaacgcagcg aaatgcgata 60
cgtaatgtga attgcagaat tccgtgaatc atcgaatctt tgaacgcaca ttgcgcccgc 120
cagcattctg gcgggcatgc ctgttcgagc gtcatt 156
```

<210> 2

<211> 561

<212> DNA

<213> *Paecilomyces tenuipes*

<400> 2

```
aaaccaacag ggattgcccc agtaacggcg agtgaagcgg caacagctca aatttgaaat 60
ctggcccccg ggtccgagtt gtaatttgca gaggatgctt cgggcgaggt gccttccgag 120
ttccctggaa cgggacgcca cagaggggta gagccccgctc tggtcggaca ccgagcccgt 180
gtgaagctcc ttcgaagagt cgagtagttt gggaatgctg ctcaaaacgg gaggtatatg 240
tcttctaaag ctaaataatt gccagagacc gatagcgcac aagtagagtg atcgaaagat 300
gaaaagcact ttgaaaagag ggttaaaaag tacgtgaaat tgttgaaagg gaagcgcaca 360
tgaccagact tgggcccggg gaatcaccgg gcgttctcgc cgggtgcactt tgccggggcac 420
aggccagcat cagtttggcg cgggggagaa aggcttcggg aacgtggctc cctcggggagt 480
gttatagccc gctgcgcaat accctgcgcc ggactgaggt acgcgcatcg caaggatgct 540
ggcgtaatgg tcatcagcga c 561
```

Patentansprüche

1. *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861.
2. Zusammensetzung, umfassend eine insektizid wirksame Menge von *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861 und einen Träger.
3. Verfahren, umfassend das Aufbringen einer insektizid wirksamen Menge von *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861 auf mindestens eine Stelle ausgewählt aus einem Schadinsekt, einem Lebensraum des Schadinsekts und einer für das Schadinsekt anfälligen Pflanze.
4. Verfahren gemäß Anspruch 3, wobei das Schadinsekt ein Lepidoptera-Schädling ist.
5. Verfahren gemäß Anspruch 3, wobei das Schadinsekt ein Hemiptera-Schädling ist.
6. Verfahren gemäß Anspruch 3, wobei das Schadinsekt ein Diptera-Schädling ist.
7. Verfahren gemäß Anspruch 3, wobei das Schadinsekt ein Thripidae-Schädling ist.
8. Verfahren gemäß Anspruch 3, wobei das Schadinsekt ein Isoptera-Schädling ist.
9. Verwendung von *Paecilomyces tenuipes* T1 FERM BP-7861 zur Bekämpfung eines Schadinsekts.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen