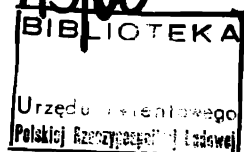


Opublikowano dnia 19 czerwca 1962 r.



POLSKIEJ RZECZYPOSPOLITEJ LUDOWEJ OPIS PATENTOWY

Nr 45969

Institut Pasteur*)

Paryż, Francja

Kl. ~~45.1.5~~

45.1.15/00

Sposób otrzymywania produktów biologicznych do zwalczania owadów szkodliwych w rolnictwie i w lasach

Patent trwa od dnia 12 marca 1960 r.

Pierwszeństwo: z dnia 20 marca 1959 r. (Francja)

Przedmiotem wynalazku jest sposób otrzymywania produktów do niszczenia na drodze biologicznej gąsienic, oraz różnych owadów pustoszących rośliny uprawne lub lasy, przy czym produkty te odznaczają się znaczną selektywnością.

Produkty te mogą być stosowane przez rozpylanie ciekłych zawiesin lub opylanie roślin, które mają być chronione. Składają się one zasadniczo z mieszaniny zarodników i toksyn powstających w trakcie zarodnikowania bakterii chorobotwórczych wobec owadów, zwłaszcza takich np. jak „*Bacillus thuringiensis*“, lub temu podobne rodzaje. Obydwa składniki tej mieszaniny działają na drodze biologicznej przeciw owadom pasożytniczym: toksyny przez bezpośrednie zatrucie krwi, zarodniki przez wytworzenie posocznicy.

Sposób otrzymywania tych insektów polega na rozmnożeniu aż do zarodnikowania szczepu

*) Właściciel patentu oświadczył, że twórcą wynalazku jest Antoine Bonnefoi.

bakterii chorobotwórczych wobec owadów, zebraniu z osrodka hodowli, po zarodnikowaniu zarodników i utworzonych toksyn, oraz na suszeniu i kondycjonowaniu zebranych zarodników i toksyn. Hodowlę prowadzi się w środowisku ciekłym przewietrzanym, ewentualnie mieszanym, przy czym środowisko to zawiera azot aminowy i węglowodany w ilościach tak dostosowanych, aby węglowodany szybko się wyczerpały i aby zarodnikowanie odbywało się zawsze w środowisku przyswajalnego azotu i w nieobecności węglowodanu. Środowisko może ewentualnie zawierać pierwiastki śladowe takie jak *Ca*, *Zn*, *Mn*, *Mg*, zwiększające wydajność i sprzyjające zarodnikowaniu. Po powstaniu zarodników i toksyn w końcu hodowli przeprowadza się oddzielanie ich od środowiska kultury przez odwirowanie lub sączenie, a następnie suszenie tego produktu zawierającego zarodniki i toksyny. Insektycyd w postaci pyłu otrzymuje się bezpośrednio po suszeniu lub po uprzednim rozdrobnieniu i przesianiu.

Sposób według wynalazku wyjaśnia szczegółowo niżej podany schemat produkcyjny.

I. Hodowla.

Hodowlę otrzymuje się wychodząc z zarodników szczepu bakterii, takiego zwłaszcza jak „*Bacillus thuringiensis*”. Pałeczkę hoduje się w środowisku ciekłym, przewietrzanym, lub nie przewietrzanym, ewentualnie mieszanym.

Do hodowli stosuje się środowisko zawierające azot aminowy w ilości 0,6—1‰ w przeliczeniu na azot, pochodzący z następujących źródeł: z peptonów mięsa lub ryb, hydrolizatów krwi, kazeiny, serwatki, makuchów soi i orzeszków arachidowych, wyciągów z kukurydzy, stosowanych osobno lub w mieszaninach.

Środowisko zawiera prócz tego około 1—2% węglowodanu, w którym w zależności od szczepu jest sacharoza, glukoza, maltoza lub dekstryna. Stężenia te są tak przystosowane, aby węglowodan wyczerpał się przed przyswajalnym azotem i aby zarodnikowanie odbyło się w niezbędnym środowisku przyswajalnego azotu i w nieobecności węglowodanu.

Środowisko zawiera wreszcie ślady pierwiastków: *Ca*, *Zn*, *Mn*, *Mg*.

Pałeczki hoduje się w głębokich kadziach.

Środowisko kultury przewietrza się ewentualnie miesza się i utrzymuje w temperaturze 30°C, przy wartości $PH = 5,5-8,5$. Hodowlę prowadzi się aż do uwolnienia zarodników.

II. Łączne oddzielanie toksyn i zarodników.

Oddzielanie toksyn i zarodników przeprowadza się jednym z następujących sposobów: przez odwirowanie na szybkiej wirówce typu Sharples, dającej pozostałość półstałą, przez odwirowanie na wirówce typu Alfa—Laval, przy czym otrzymuje się stężoną zawiesinę zarodników i toksyn, oraz przez odsączenie na próżniowym filtrze obrotowym z ładunkiem ziemi okrzemkowej.

III. Suszenie.

Suszenie przeprowadza się jednym z następujących sposobów:

Pozostałość po odwirowaniu, otrzymaną z wirówki typu Sharples, miesza się z gliną typu bentonitu, a otrzymany produkt, subtelnie sproszkowany, suszy w suszarce obrotowej, lub w suszarce powietrznej.

Pozostałość po odwirowaniu można ogrzewać bezpośrednio w suszarce próżniowej z mechanicznym mieszaniem masy ogrzewanej.

Można również stężoną zawiesinę, zarodników i toksyn otrzymaną z wirówki typu Alfa—Laval wprowadzić do bębnowej suszarki obrotowej i suszyć w próżni lub bez próżni, lub przez

atomizację tej papki, wreszcie w suszarce obrotowej lub pneumatycznej zasilanej wilgotnym osadem otrzymanym bezpośrednio przez odsączenie na próżniowym filtrze obrotowym.

IV. Rozdrabnianie i przesiewanie.

Produkty otrzymane przez suszenie pierwszym, drugim i ostatnim sposobem rozdrabnia się, a następnie przesiewa przez sito o gęstości co najmniej równej numerowi 180.

Produkty otrzymane pozostałymi sposobami mogą być opakowywane i przechowywane w takim stanie w jakim zostały otrzymane i następnie stosowane w postaci zawiesiny w wodzie do opryskiwania lub też można je traktować jak poprzednio omówione produkty z nośnikiem lub bez nośnika.

Otrzymane produkty są standaryzowane zgodnie z normami ustalonymi przez Laboratoire de lutte Biologique et de Biocénétique de la Minière (I.N.R.A.). W zależności od wyboru środków mechanicznych stosowanych do oddzielania toksyn i zarodników oraz suszenia można w praktyce proces według wynalazku prowadzić w następujący sposób:

Przykład I. Kulturę „*Bacillus thuringiensis*” hoduje się w środowisku ciekłym, przewietrzanym, ewentualnie mieszanym. Wytworzone przy końcu hodowli zarodniki i toksyny odwirowuje się na wirówkach szybko obrotowych ciągłych typu Sharples. Otrzymaną półstałą pozostałość miesza się z gliną typu bentonitu np. bentonitu Clarsol FB 2, jako nośnikiem i suszy w cienkiej warstwie w suszarce powietrznej, lub suszy w pionowej suszarce obrotowej, za pomocą krążącego w przeciwnym kierunku powietrza, w temperaturze 40°C.

Rozdrabnianie produktu przeprowadza się w młynie młotkowym lub otoczkowym, a następnie przesiewa przez sito nr 180 lub jeszcze gęstsze.

Przykład II. Kulturę „*Bacillus thuringiensis*” hoduje się w środowisku ciekłym, przewietrzanym i ewentualnie mieszanym. Wytworzone przy końcu hodowli zarodniki i toksyny odsąca się na próżniowym filtrze obrotowym, z warstwą ziemi okrzemkowej. Górną warstwę ziemi okrzemkowej zawierającą zarodniki i toksyny oddziela się od filtra w sposób ciągły.

Suszenie, rozdrabnianie i przesiewanie przeprowadza się jak w przykładzie I.

Przykład III. Kulturę „*Bacillus thuringiensis*” hoduje się w środowisku ciekłym, przewietrzanym i ewentualnie mieszanym.

Wytworzone na końcu hodowli zarodniki i toksyny odwirowuje się na wirówce typu Alfa—Laval. Otrzymane mleko suszy się na bębnie obrotowym, w próżni lub bez próżni, ewentualnie przez atomizację.

Otrzymany proszek może być stosowany w postaci wodnej zawiesiny, lub w mieszaninie ze sproszkowanym nośnikiem.

Przykład IV. Kulturę zbiera się przez odwirowanie na szybkoobrotowej wirówce typu Sharples. Otrzymałą pozostałość suszy się w suszarce próżniowej, pozwalającej na mechaniczne mieszanie masy przeznaczonej do suszenia lub w suszarce z płytami grzejnymi, w próżni.

Przykład V. Do pozostałości z odwirowania dodaje się małą ilość wody. Otrzymane mleko traktuje się jak w przykładzie III.

Jest zrozumiałe, że można zastosować cały szereg zmian, udoskonaleń w szczegółach i sposobów mniej lub więcej odpowiadających przedstawionym, nie wychodząc mimo to poza zakres wynalazku.

Rozumie się, że mimo że wynalazek dotyczy zasadniczo sposobu prowadzenia hodowli kultury pałeczek zarodnikujących wytwarzających określoną toksynę, mianowicie pałeczek typu „*Bacillus thuringiensis*“, sposób ten jednak może mieć zastosowanie do hodowli całego szeregu pałeczek, z których można przytoczyć według klasyfikacji Heimpel'a i Angus'a (Can. J. Microbiol. 1958, 4, 531—541): *B. sotto*, *B. thuringiensis* var. *alesti*, *B. entomocidus* var. *subtoxicus*, *B. finitimus*, przy czym wyliczenie to nie ma charakteru ograniczającego.

Toksyna zostaje uwolniona na końcu hodowli w tym samym czasie co zarodek. To umożliwia

zebranie toksyn i zarodników w trakcie jednej operacji, przez szybkie odwirowanie lub sączenie przez ziemię okrzemkową.

Należy wziąć pod uwagę, że środowiska stosowane do rozwoju tych bakterii można zmieniać w dość znacznym zakresie, a co się tyczy pochodzenia produktów podstawowych stosowanych do ich wytwarzania, ich jakość zależy od skomplikowanej równowagi aminokwasów.

Temperatura stosowana w sposobie według wynalazku wynosi 30°C. Nie jest ona obowiązującą optymalną temperaturą dla wszystkich szczepów, stanowiących przedmiot zainteresowania, odpowiada jednak aktywnemu wytwarzaniu toksyn przez szczep bakteryjny „*Bacillus thuringiensis*“.

Zastrzeżenie patentowe

Sposób otrzymywania produktów biologicznych do zwalczania owadów szkodliwych w rolnictwie i w lasach, znamieny tym, że hodowlę szczepu bakterii chorobotwórczej wobec owadów prowadzi się aż do zarodnikowania, w ciekłym środowisku, ewentualnie przewietrzanym i (lub) mieszanym, utrzymywanym w temperaturze 30°C i wartości pH = 5,5—8,5, zawierającym azot aminowy w ilości 0,6—1%, w przeliczeniu na azot i węglowodan w ilości 1—2% z ewentualnym dodatkiem pierwiastków śladowych, a wytworzone zarodniki i toksyny zbiera się przez odwirowanie lub odsączenie i ewentualnie rozdrabnia i przesiewa.

Institut Pasteur

Zastępca: mgr Józef Kamiński
rzecznik patentowy