

PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

308 112

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.:

A01N 63/04 (2006.01)

C12N 1/14 (2006.01)

C12R 1/645 (2006.01)

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2019-141**
(22) Přihlášeno: **12.03.2019**
(40) Zveřejněno: **08.01.2020**
(Věstník č. 2/2020)
(47) Uděleno: **27.11.2019**
(24) Oznámení o udělení ve věstníku: **08.01.2020**
(Věstník č. 2/2020)

(56) Relevantní dokumenty:

BARTA M. et al.: „Hypocrealean fungi associated with populations of *Ips typographus* in West Carpathians and selection of local *Beauveria* strains for effective bark beetle control,“ *Biologia*, vol. 73, no. 1, leden 2018, str. 53 – 65, ISSN 0006-3088; ANSARI M. A. et al.: „Susceptibility of different developmental stages of large pine weevil *Hylobius abietis* (Coleoptera: Curculionidae) to entomopathogenic fungi and effect of fungal infection to adult weevils by formulation and application methods,“ *Journal of Invertebrate Pathology*, vol. 111, no. 1, 2012, str. 33 – 40, ISSN 0022-2011; WILLIAMS C. D. et al.: „Control of a major pest of forestry, *Hylobius abietis*, with entomopathogenic nematodes and fungi using eradicator and prophylactic strategies,“ *Forest Ecology and Management*, vol. 305, 2013, str. 212 – 222, ISSN 0378-1127.
SK 50462015; WO 2007087813; WO 2016111480.

(73) Majitel patentu:

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích,
České Budějovice, České Budějovice 2, CZ

(72) Původce:

Ing. Andrea Bohatá, Ph.D., Plzeň, Skvrňany, CZ

(74) Zástupce:

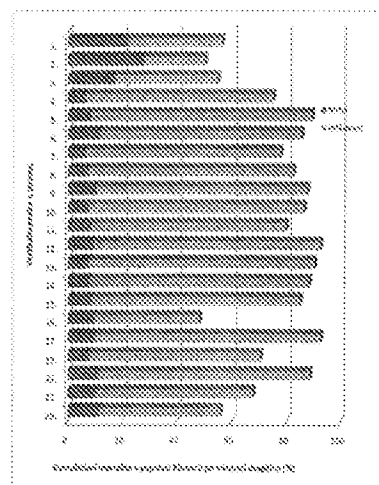
Mgr. Aleš Lang, Pražská tř. 1499/15, 370 04 České
Budějovice, České Budějovice 3

(54) Název vynálezu:

Kmen entomopatogenní houby *Beauveria bassiana*, způsob jeho použití a přípravek s obsahem spor kmene

(57) Anotace:

Kmen entomopatogenní houby *Beauveria bassiana* pro ochranu lesních porostů uložený pod depozitním číslem vzorku CCM 8382 ve sbírce Česká sbírka mikroorganismů je využitelný pro biologickou ochranu lesních porostů před populacemi škůdců z čeledi Scolytinae a z čeledi Molytinae, zejména klikoroha borového.



Kmen entomopatogenní houby *Beauveria bassiana*, způsob jeho použití a přípravek s obsahem spor kmene

5 Oblast techniky

Vynález se týká kmene entomopatogenní houby *Beauveria bassiana* pro ochranu lesních porostů před populacemi jejich škůdců, způsobu ochrany lesních porostů za pomoci entomopatogenní houby a přípravku s obsahem spor entomopatogenní houby.

10

Dosavadní stav techniky

V současné době trápí lesní porosty na území České republiky kůrovcové kalamity, které jsou způsobeny početnými populacemi škůdců z čeledi *Scolytinae* (kůrovci). V důsledku přemnožení kůrovců dochází k intenzivnímu napadání i zdravých stromů, které by za běžných podmínek měly šanci se napadení škůdci ubránit. Dlouhotrvající období sucha navíc snižuje obranyschopnost stromů, takže nárůst populací kůrovců a škody na lesním porostu jsou mnohonásobně větší. Následně na vykácených a nově osazených plochách, dochází k poškození sazenic způsobené klikorohem borovým (čeleď *Molytinae*), který do sazenic vyžírá drobné, kolmé nebo trychtýřovité jamky, zasahující často až do povrchové části dřeva. Při silném poškození se vyžrané jamky spojují po obvodu kmínku do plošek a sazenice hynou.

Jedním z možných postupů, jak bojovat proti škůdcům lesních porostů, je u kůrovců odkorňování napadených stromů, aktivní těžba napadených stromů, transport napadených stromů mimo lesní porosty a likvidace larev škůdců před jejich přeměnou v dospělé jedince schopné reprodukce. V důsledku intenzivní těžby kalamitních porostů je na trhu nadbytek dřeva s nízkou výkupní cenou, což má za následek nedostatečnou motivaci k dalšímu zpracování dřeva z postižených porostů.

30

Alternativou k těžbě a k mechanickému ošetřování stromů jsou chemické prostředky. Pro monitoring a odchyt kůrovců se využívají feromonové pasti, kdy jsou dospělci lákáni do lapačů pomocí feromonu. Po vletnutí do lapače jsou zachyceni ve sběrné nádobě, ze které se nemohou dostat zpět do prostředí. Další opatření použité k odchytu dospělců jsou lapáky, což jsou pokácené zdravé stromy zakryté větvemi zabraňujícími vysychání. Lapák je atraktivní pro dospělé a slouží k jejich odchytu. Po napadení se lapáky ošetřují chemicky pomocí insekticidů, které zavrtané dospělé zahubí, nebo se před dokončením vývojového cyklu škůdců lapáky z lesního porostu vyvezou a jsou mimo les opět ošetřeny pesticidy, nebo odkorněny. Asanace lapáků je prováděna postřikem nebo práškovým rozptylem insekticidů, které redukuje populace kůrovců hned po aplikaci.

40

Nevýhody využití chemických přípravků spočívají v tom, že se jedná o uměle připravené látky, které jsou toxické nejen pro škůdce, ale i pro jiné živočišné druhy, zejména necílový hmyz. Navíc existuje riziko úniku chemikálií, které v koncertované podobě mohou poškodit životní prostředí.

45

Nevýhody chemických řešení odstraňují rychle se rozvíjející biologické metody, při kterých se izoluje patogenní mikroorganismus, např. houba, napadající a infikující populace škůdců. Příkladem takového vynálezu je kmen entomopatogenní houby z dokumentu CZ 300 701 B6. Vynález popisuje nový kmen CCM 8367 entomopatogenní houby *Isaria fumosorosea*, který účinně napadá hmyzí škůdce z řádu *Lepidoptera*, *Coleoptera*, *Hymenoptera* a *Homoptera*. Výhodou biologické metody je to, že se jedná o mikroorganismy, které se v prostředí přirozeně vyskytují, takže jejich uměle navýšená přítomnost v prostředí neohrožuje jiné živočišné druhy, kromě jejich přirozených hostitelů. Jakmile poklesne populace přirozených hostitelů, nemá možnost se patogenní mikroorganismus dále reprodukovat, a jeho zastoupení v prostředí začne přirozeně ubývat.

55

Úkolem vynálezu je ochrana lesních porostů před škůdci pomocí kmene entomopatogenní houby *Beauveria bassiana*, který by napadal a infikoval populace lesních škůdců z čeledi *Scolytinae* a z čeledi *Molytinae* bez negativního vlivu na ostatní živočišné a rostlinné druhy, který by

5 vykazoval vysokou životaschopnost a účinnost, a který by bylo možné průmyslově zpracovat do přípravků vhodných k masovému rozšíření.

Podstata vynálezu

10 Vytčený úkol je vyřešen pomocí kmene entomopatogenní houby *Beauveria bassiana* pro ochranu lesních porostů uložený pod depozitním číslem vzorku CCM 8382 ve sbírce Česká sbírka mikroorganismů.

15 Výhody kmene entomopatogenní houby podle vynálezu spočívají v tom, že houba *Beauveria bassiana* se přirozeně vyskytuje v lesních porostech mírného pásu, kam mimo jiné spadají i lesní porosty České republiky. Tím pádem není nový kmen houby podle vynálezu exotickým invazivním kmenem uměle implantovaným do prostředí lesních porostů, ale přirozeně koexistuje se stávajícími houbami, a dále s rostlinnými a živočišnými druhy. Další výhodou je, že kmen

20 CCM 8382 je virulentní ke škůdcům (kůrovčům) z čeledi *Scolytinae* způsobujícím kůrovcové kalamity v lesních porostech a z čeledi *Molytinae*, zejména pak klikorohu borovému způsobujícímu poškození sazenic. V neposlední řadě je výhodné, že kmen houby CCM 8382 lze snadno produkovat v řízených podmínkách pomocí submerzní kultivace i pomocí povrchové kultivace, takže je vhodný pro masovou průmyslovou produkci a pro masové aplikace při boji

25 s kůrovcovými kalamitami v lesních porostech.

Součástí vynálezu je také způsob použití entomopatogenní houby pro ochranu lesních porostů, jehož podstata spočívá v tom, že se pro redukci populací škůdců lesních porostů z čeledi *Scolytinae* a z čeledi *Molytinae*, zejména klikoroha borového, použije kmen CCM 8382 entomopatogenní houby *Beauveria bassiana*. Kmen houby CCM 8382 vytváří spory, které

30 ulpívají na povrchu rostlin i kmenů stromů, kde mohou pasivně čekat na kontakt se škůdcem, kterého následně infikují. V případě ulpení spor na těle jedince z čeledi *Scolytinae* a z čeledi *Molytinae* dojde k průniku hyfy houby po naklíčení spor do tělní dutiny, kde se začnou tvořit blastospory (pučivé spory) houby, které v další fázi vývoje vytvoří v hemolymfě hustou masu,

35 která hostitele usmrtí. V konečné fázi vývoje prorůstají houbová vlákna na povrch usmrceného hostitele. Mrtvý hostitel poroste bílým myceliem, které vysporuluje, tj. vytvoří se nová generace spor houby. Nové spory se šíří v prostředí a následně infikují další jedince v populacích škůdce. Započnou tak nový cyklus reprodukce na novém hostiteli.

40 Ve výhodném provedení způsobu podle vynálezu se pro ochranu lesních porostů použijí spory houbového kmene CCM 8382, které se aplikují v kapalném postřiku a/nebo v rozptýleném prášku. Distribuce spor je možná jak mokrou cestou, tak i suchou cestou, přičemž volba cesty závisí na podmínkách panujících v lokalitě lesního porostu. Mokrý postřik v podobě kapalných postřiků je vhodná jak pro ochranu semenáčků lesního porostu, tak i pro preventivní nebo

45 kurativní aplikaci k ošetření lesního porostu. Suchá cesta ve formě studeného kouře je zejména výhodná pro preventivní i kurativní ošetření lesního porostu.

Nedílnou součástí vynálezu je přípravek pro ochranu lesních porostů, který obsahuje spory entomopatogenní houby rozptýlené v nutritivním nosiči spor.

50 Podstata vynálezu spočívá v tom, že přípravek („sporový koncentrát“) obsahuje spory houby *Beauveria bassiana* kmene CCM 8382 v koncentraci buď 10^9 nebo 10^{10} spor v 1 g nutritivního nosiče. Výhodou sporového koncentráту je bezesporu vysoký obsah infekčních spor v 1 gramu přípravku. Další výhodou skladnosti sporového koncentráту je možnost zhotovovat z přípravku

55 „in situ“ finální produkt v potřebném objemu s časovým předstihem, nebo i těsně před aplikací.

Navíc přípravek v podobě sporového koncentráту je možné dlouhodobě uchovávat při teplotě 4 °C až po dobu jednoho roku, což je výhodné z důvodu, že není potřeba v chladu skladovat velké objemy finálního produktu.

- 5 Ze sporového koncentráту podle vynálezu je vytvořena vodní suspenze, která je určena pro kapalný postřik. Vhodnou volbou objemu kapalin lze ředit přípravek tak, aby koncentrace spor odpovídala stupni zasažení lokality lesního porostu škodlivým hmyzem. Suspenze je tak tvořena vodou, nutritivním nosičem a sporami houby *Beauveria bassiana* kmene CCM 8382 o koncentraci od 10^6 do 10^7 spor v 1 ml suspenze. V dalším výhodném provedení může suspenze
10 navíc obsahovat přídavek některého z rostlinných olejů. Aplikace spor v kapalném médiu je ideální pro postřik lesního porostu, kdy kapičky přípravku stékají od vrcholu stromů ke spodním částem stromů.

- Rovněž je výhodné ze sporového koncentráту podle vynálezu vytvořit práškovou směs tvořenou
15 jemnou křemelinou, nutritivní složkou a sporami houby *Beauveria bassiana* kmene CCM 8382. Vhodnou volbou množství jemné křemeliny lze snižovat koncentraci spor, aby odpovídala stupni zasažení lokality lesního porostu škodlivým hmyzem. Finální prášková směs tak může obsahovat koncentraci od 10^8 do 10^9 spor houby v 1 g směsi. Navíc distribuce spor rozptylem prášku, zejména v podobě studeného kouře, je vhodná pro lokality s vyšším lesním porostem, kdy je
20 prouděním vzduchu prášek unášen až k vrcholům stromů a je rozptýlen i na větší plochy lesních porostů.

- Vynález slouží k ochraně lesních porostů biologickou cestou, která je podle dostupných zdrojů, kromě cílových skupin škůdců, šetrná vůči ostatnímu životu nacházejícímu se v dané lokalitě.
25 V případě likvidace populace škůdců z čeledi *Scolytinae* a *Molytinae* se houbový kmen časem začne z prostředí přirozeně odbourávat, protože se v přírodě běžně vyskytují organismy, které se živí houbami. Nicméně se v přírodě nějaké množství uchytí, neboť je ve svém přirozeném prostředí. Navíc je kmen schopen přežívat i v nižších teplotách, takže může přezimovat v prostředí a v případě nové invaze škůdců může opět začít s přirozenou expanzí bez vědomí
30 starajícího se člověka. Navíc je houbový kmen podle vynálezu vhodný pro průmyslové namnožení spor do přípravku, ve kterém spory dokáží na nutritivním nosiči při stabilní teplotě 4 °C přežít po dobu až jednoho roku.

35 Objasnění výkresů

- Uvedený vynález bude blíže objasněn na následujících vyobrazeních, kde obr. 1 je grafem vertikální struktury populace dospělců *Ips typographus* v kůře stromu v rámci třetího příkladu uskutečnění vynálezu.
40

Příklady uskutečnění vynálezu

- Rozumí se, že dále popsané a zobrazené konkrétní případy uskutečnění vynálezu jsou
45 představovány pro ilustraci, nikoliv jako omezení vynálezu na uvedené příklady. Odborníci znají stavu techniky najdou nebo budou schopni zajistit za použití rutinního experimentování větší či menší počet ekvivalentů ke specifickým uskutečněním vynálezu, která jsou zde popsána.

- Biomasa spor kmene CCM 8382 houby *Beauveria bassiana* je produkována pomocí povrchové
50 kultivace na přirozeném substrátu. Po dosažení maximální sporulace jsou v první fázi formulace převedeny spory z povrchu substrátu do nutritivního nosiče a ve formě koncentráту (10^9 nebo 10^{10} spor v 1 g) je preparát skladován při teplotě cca 4 °C.

- Před expedicí je koncentrát smíchán s inertním práškem (jemná křemelina, prášková směs)
55 v poměru 1:100 (= $1,0 \times 10^8$ spor v 1 g) (preventivní aplikace vynálezu) nebo v poměru 1:10 (=

1,0 x 10⁹ spor / 1 g) (kurativní aplikace vynálezu) a přípravek je po 1000 g rozvažován do transportních igelitových obalů. Každé balení je opatřeno identifikační etiketou, na které je (kromě jiných informací) uvedeno číslo kmene entomopatogenní houby a lokalita, na kterou je přípravek určen.

5

Nebo je koncentrát těsně před aplikací v terénu smíchán s vodou s přídavkem nebo bez přídavku rostlinného oleje a vzniklá suspenze nebo emulze následně aplikována do lesních porostů.

Po testovacích aplikacích nebyl zaznamenán úhyn přirozených nepřátel škůdců, ani jiného užitečného hmyzu, nebo roztočů.

10

V podkorní nice byla přítomnost kmene CCM 8382 zaznamenána pouze na družích kůrovců čeledi *Scolytinae*.

Příklad 1: Použití konidiové suspenze kmene CCM 8382 houby *B. bassiana* k ošetření dospělců lýkožrouta smrkového *Ips typographus* v laboratorních podmínkách

15

Povrch plně vysporulovaného kmene CCM 8382 na přirozeném substrátu byl přelit sterilním roztokem destilované vody s přídavkem detergentu 0,05% Tween 80. Koncentrace konidií v získané suspenzi byla spočítána pomocí hematocytometru (Neubauerova vylepšená komůrka) a následně adjustována na standardní titr 1,0×10⁷ konidií v 1 ml suspenze.

20

Před vlastním experimentem byly připraveny vlhké komůrky. Vlhkou komůrku tvořila sterilní jednorázová plastová krabice o velikosti 90 x 70 x 60 mm, která měla na dně navlhčenou sterilní buničinu.

25

Dospělci lýkožrouta smrkového byli získáni z napadeného stromu, kdy se v lese nasbíraly kusy smrkové kůry, které obsahovaly dospělce, a zároveň se přidala kůrová drť, ve které byli též přítomni dospělci lýkožrouta. V laboratorních podmínkách se dospělci z drtě a kůry vyjmuli do sterilní krabíčky.

30

Celkem bylo v experimentu použito 100 dospělců ošetřených v suspenzi kmene a 100 dospělců ošetřené v destilované vodě s detergentem (kontrola).

Při ošetření byl každý dospělec jednotlivě ponořen po dobu 2 sekund do připravené suspenze kmene a po ošetření byl umístěn na filtrační papír, aby byla odsáta přebytečná suspenze houby. Do každé vlhké komůrky bylo vloženo 20 dospělců ošetřených suspenzí kmene, v pěti opakováních. V kontrolní variantě byli dospělci jednotlivě ponořeni do destilované vody s obsahem detergentu 0,05 % Tween 80 a po odstranění přebytečné vody byli dospělci vloženi též do vlhkých komůrek. Kontrolní varianta měla také pět opakování.

35

40

Krabíčky s ošetřenými i kontrolními dospělci byly umístěny do termostatu a inkubace probíhala v podmínkách bez přístupu světla při teplotě 21 °C. Hodnocení bylo provedeno po 3, 5 a 7 dnech po založení. V rámci ošetřené varianty i kontroly byl zaznamenán stav dospělců a zařazen do kategorie: „živý – mrtvý – infikovaný“. Kumulovaná mortalita vyjadřuje součet mrtvých a infikovaných dospělců.

45

Struktura populace dospělců lýkožrouta smrkového po jejich namočení do konidiové suspenze kmene:

50

Varianta	den	živí (%)	mrtví (%)	Infikování (%)	kumulovaná mortalita
Kontrola	3 den	94,20%	5,80%	0,00%	5,80%
	5 den	86,60%	13,40%	0,00%	13,40%
	7 den	81,90%	18,10%	0,00%	18,10%
CCM 8382	3 den	54,20%	34,40%	11,40%	45,80%
	5 den	6,10%	13,90%	80,00%	93,90%
	7 den	0,80%	6,40%	92,80%	99,20%

Příklad 2: Použití práškové formulace kmene CCM 8382 houby *B. bassiana* k ošetření dospělci lýkožrouta smrkového *Ips typographus* v laboratorních podmínkách

5

Konidie z plně vysporulovaného kmene CCM 8382 na přirozeném substrátu byly po usušení smíchány s inertním nosičem. V takto vzniklé práškové formulaci byla stanovena koncentrace konidií v 1 g. Následně byla prášková směs adjustována pomocí přídavku inertního nosiče na standardní titr $1,0 \times 10^7$ konidií v 1 g práškové formulace.

10

Před vlastním experimentem byly opět připraveny vlhké komůrky. V experimentu byli použiti dospělci získaní ze smrkového porostu.

15

V tomto experimentu byla prášková formulace kmene CCM 8382 nanášena v tenké vrstvě na dno Petriho misky. Na práškovou formulaci byli umístěni dospělci, kteří se po práškové formulaci pohybovali po dobu 30 sekund. Následně byli dospělci přeneseni do vlhké komůrky po 20 dospělciích v pěti opakování. V kontrolní variantě byli dospělci vystaveni jen inertnímu nosiči, bez přítomnosti konidií hub. Opět bylo založeno v kontrolní variantě pět opakování, po 20 dospělciích.

20

Celkem tedy bylo 100 dospělciích vystaveno práškové formulaci kmene a 100 dospělciích inertnímu nosiči. Krabičky s ošetřenými i kontrolními dospělci byly umístěny do termostatu a inkubace probíhala v podmínkách bez přístupu světla při teplotě 21 °C. Hodnocení bylo provedeno po 3, 5 a 7 dnech po založení. V rámci ošetřené varianty i kontroly byl zaznamenán stav dospělciích a zařazen do kategorie: „živý – mrtvý – infikovaný“. Kumulovaná mortalita vyjadřuje součet mrtvých a infikovaných dospělciích.

25

Struktura populace dospělciích lýkožrouta smrkového po jejich vystavení práškové směsi:

Varianta	den	živí (%)	mrtví (%)	infikování (%)	kumulovaná mortalita
Kontrola	3 den	94,80%	5,20%	0,00%	5,20%
	5 den	88,30%	11,70%	0,00%	11,70%
	7 den	82,90%	17,10%	0,00%	17,10%
CCM 8382	3 den	47,40%	36,20%	16,40%	52,60%
	5 den	3,10%	10,60%	86,30%	96,90%
	7 den	0,00%	3,20%	96,80%	100,00%

30

Příklad 3: Použití práškové formulace kmene CCM 8382 houby *B. bassiana* k ošetření lesních porostů proti kůrovcům.

35

Kmen CCM 8382 byl produkován pomocí velko-objemnější povrchové kultivace na přirozeném substrátu. Konidie byly po usušení sklizeny do nutritivního nosiče a následně adjustovány na standardní titr 1×10^{10} konidií v 1 g sporového koncentrátu. Sporový koncentrát byl následně ředěn inertním nosičem za účelem dosažení koncentrace konidií 1×10^8 v 1 g práškové směsi.

Prášková formulace byla aplikována v lese formou studeného kouře na porost stromů, mezi nimiž byly i stromy napadené kůrovci. Studený kouř byl vzduchem roznesen až do korun stromů. Aplikace byla v době, kdy docházelo k rojení kůrovců. Osm týdnů po aplikaci byl pokácen náhodně vybraný strom. Detailní analýzou tohoto náhodně vybraného stromu bylo zjištěno, že infekce kmenem CCM 8382 houby *B. bassiana* je rovnoměrně rozptýlena po celém stromě, a to včetně partií v koruně a na vrcholu kmene, tj. ve výši přibližně 21 m.

Výsledky pokusu zaměřeného na ověřování účinnosti kmene houby *Beauveria bassiana* aplikované formou sporového prášku byly generovány z celého stromu. Strom byl rozřezán na dílčí špalky, které byly rozděleny po délce do tří skupin. Následně byla ve třech sledovacích dnech s měsíčním intervalem rozebrána třetina špalků a zaznamenána kumulativní mortalita (mrtví a infikovaní) všech přítomných dospělců, včetně těch, kteří byli zavrtáni do kůry. V rámci hodnocení byl zaznamenán stav dospělců a každý dospělec byl zařazen do kategorie: „živý - mrtvý - infikovaný“. Po vyjmutí všech dospělců byli následně všichni živí dospělci umístěni do vlhkých komůrek za účelem zjištění, zda u těchto dospělců v optimálních podmínkách vypukne nákaza.

První analýza byla tedy provedena 8 týdnů po aplikaci práškové formulace, druhá analýza 12 týdnů po aplikaci a třetí analýza 16 týdnů po aplikaci. První analýza prokázala, že kumulovaná mortalita se pohybovala na první třetině špalků ve vertikální pozici stromu od 23,3 % do 60,8 %. Ve druhé analýze byla zaznamenána kumulovaná mortalita z druhé třetiny špalků od 20,4 do 44,0 %. U prvních dvou analýz jsou uvedeny výsledky bez následné inkubace živých a mrtvých jedinců. U třetí analýzy se kumulovaná mortalita na zbylých špalcích pohybovala bez inkubace živých jedinců od 30,6 do 52,6 %. Po inkubaci živých dospělců se kumulovaná mortalita navýšila od 48,4 do 92,7 %. Pomocí inkubace bylo prokázáno, že spory kmene jsou uchycené i na živých dospělcích a v případě vhodných podmínek jsou schopny způsobit nákazu u těchto dospělců.

Na grafu uvedeném v obrázku 1 je vertikální struktura populace dospělců *Ips typographus* v kůře stromu po 3. analýze.

Průmyslová využitelnost

Kmen CCM 8382 entomopatogenní houby *Beauveria bassiana*, způsob jejího použití a přípravek s obsahem jejích spor podle vynálezu naleznou uplatnění v biologické ochraně lesních porostů před kůrovcovými kalamitami a bude jednou z metod ochrany v rámci „Integrované ochrany lesa“.

PATENTOVÉ NÁROKY

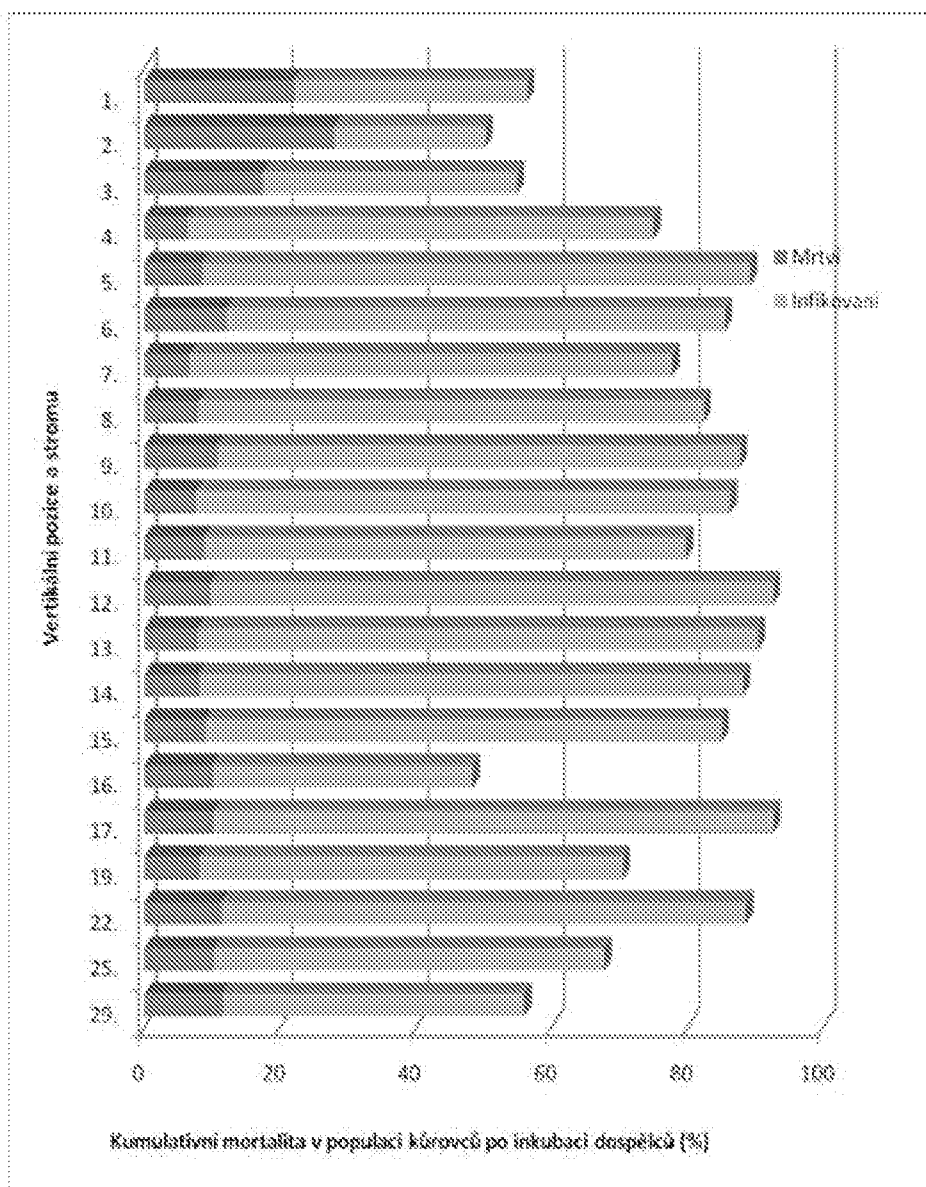
1. Kmen entomopatogenní houby *Beauveria bassiana* pro ochranu lesních porostů uložený pod depozitním číslem vzorku CCM 8382 ve sbírce Česká sbírka mikroorganismů Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity, Kamenice 753/5, 625 00 Brno.

2. Způsob použití entomopatogenní houby pro ochranu lesních porostů, **vyznačující se tím**, že se použije kmen CCM 8382 entomopatogenní houby *Beauveria bassiana* pro redukci populací škůdců lesních porostů z čeledi *Scolytinae* a z čeledi *Molytinae*, zejména klikoroha borového.

3. Způsob podle nároku 2, **vyznačující se tím**, že se na lesní porost aplikují spory houby *Beauveria bassiana* kmene CCM 8382.

4. Způsob podle nároku 3, **vyznačující se tím**, že se spory aplikují v kapalném postřiku a/nebo v rozptýleném prášku.
- 5 5. Způsob podle nároku 4, **vyznačující se tím**, že se pro ochranu sazenic stromků v lesním porostu použije aplikace kapalným postřikem.
6. Způsob podle nároku 4, **vyznačující se tím**, že se pro preventivní i kurativní ošetření lesního porostu použije aplikace rozptýlením prášku.
- 10 7. Přípravek pro ochranu lesních porostů s obsahem spor entomopatogenní houby rozptýlených v nutritivním nosiči, **vyznačující se tím**, že obsahuje spory houby *Beauveria bassiana* kmene CCM 8382 v koncentraci od 10^9 do 10^{10} spor v 1 g nutritivního nosiče spor.
- 15 8. Přípravek podle nároku 7, **vyznačující se tím**, že je ve formě suspenze pro kapalný postřik tvořené vodou, nutritivním nosičem a sporami houby *Beauveria bassiana* kmene CCM 8382 v koncentraci od 10^6 do 10^7 spor v 1 g suspenze.
9. Přípravek podle nároku 8, **vyznačující se tím**, že suspenze obsahuje přídavek alespoň jednoho rostlinného oleje.
- 20 10. Přípravek podle nároku 7, **vyznačující se tím**, že je ve formě práškové směsi tvořené jemnou křemelinou, nutritivní složkou a sporami houby *Beauveria bassiana* kmene CCM 8382 v koncentraci od 10^8 do 10^9 spor v 1 g práškové směsi.

1 výkres



Obr. 1