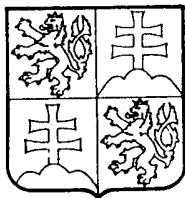


ČESKÁ A SLOVENSKÁ
FEDERATIVNÍ
REPUBLIKA
(19)



FEDERÁLNÍ ÚŘAD
PRO VYNÁLEZY

ZVEŘEJNĚNÁ PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

(12)

(21) 00785-91.L

(13) A3

5(51) A 01 N 63/00

(22) 22.03.91

(32) 22.03.90

(31) 90/0738

(33) DK

(40) 15.10.91

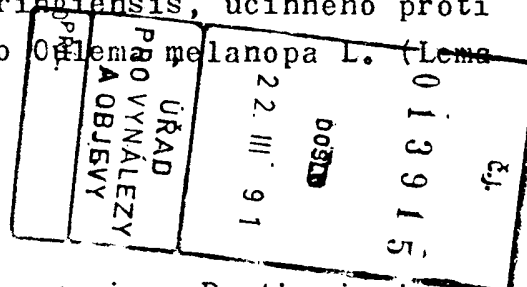
(71) NOVO-NORDISK A/S, Bagsvaerd, DK

(72) Sanders John Michael, Birkerod, DK

(54) Použití mikroorganismu *Bacillus thuringiensis*, účinného proti broukům, k potírání kohoutka černého *Oulema melanopa* L. (*Lema melanopa* L.)

(57) Použití alespoň jednoho poddruhu *Bacillus thuringiensis* účinného proti broukům, nebo jeho delta endotoxinu k boji proti kouhoutku černému - *Oulema melanopa* (L.), *Lema melanopa* (L.). Používají se poddruhy *tenebrionis*, nebo *San Diego*.

Použití mikroorganismu Bacillus thuringiensis, účinného proti broukům, k potírání kohoutka černého (Culema melanopa L.) (Lema melanopa L.)



Oblast techniky

Vynález se týká použití mikroorganismu B. thuringiensis, účinného proti broukům, nebo jeho delta endotoxinu k potírání kohoutka černého (Culema melanopa L.) (Lema melanopa L.), způsobu boje proti kohoutku černému aplikací účinného množství mikroorganismu B. thuringiensis, účinného proti broukům, nebo jeho delta endotoxinu na místa zamořená kohoutkem černým (Culema melanopa L.) (Lema melanopa L.), a insekticidních prostředků pro potírání kohoutka černého (Culema melanopa L.) (Lema melanopa L.).

Dosavadní stav techniky

Komerční prostředky obsahující Bacillus thuringiensis se používají v celém světě k biologickému boji proti škodlivému hmyzu. Výhodou těchto bakteriálních insekticidů je, že jsou vysoce selektivní pro velmi úzký rozsah druhů hmyzu, jež se mají napadnout, a že jsou biodegradabilní.

Komerční prostředky obsahující Bacillus thuringiensis se mohou aplikovat až do doby žní bez jakéhokoliv nepříznivého účinku na kulturní plodiny.

Bacillus thuringiensis je tyčinková, aerobní, sporotvorná bakterie jedinečně charakterizovaná produkcí alespoň jednoho vměstku v průběhu sporulace, nazývaného parasporálním krystalem. Tyto krystaly jsou složeny z vysokomolekulárních proteinů označovaných jako delta-endotoxiny. Tyto delta-endotoxiny jsou účinnou složkou dostupných komerčních prostředků mikroorganismu Bacillus thuringiensis.

Až dosud bylo identifikováno mnoho kmenů B. thuringiensis s různým spektrem hmyzích hostitelů. Jsou roztrženy na různé druhy podle svých flagelárních antigenů. Předmětem obzvláštního zájmu je Bacillus thuringiensis, poddruh kurstaki a poddruh aizawai, používaný pro potírání motýlovitých škůdců, Bacillus thuringiensis, poddruh israelensis, používaný proti dvoukřídlym hmyzím škůdcům a

Bacillus thuringiensis, poddruh tenebrionis a Bacillus thuringiensis, poddruh San Diego, používané proti škůdcům řádu brouků.

První izolace Bacillu thuringiensis, toxického vůči broukům, byla popsána v roce 1983 (A. Krieg a kol., Z. ang. Ent. 96, str. 500 až 508, evropská patentová přihláška EP 0149162 A2.

Izolovaný mikroorganismus, který byl označen jako Bacillus thuringiensis, poddruh tenebrionis, byl uložen v Německé sbírce mikroorganismů pod číslem DSM 2803. Bacillus thuringiensis, poddruh tenebrionis byl izolován v roce 1982 z mrtvé kukly potemníka Tenebrio molitor (čeleď potemníkovití, řád brouci). Tento kmen produkuje uvnitř každé buňky jednu spору a jeden insekticidní parasporální krystal, který má tvar ploché destičky o délce přibližně 0,8 μ m až 1,5 μ m. Náleží k serotypu H8a,8b a pathotypu C Bacillu thuringiensis (Krieg a kol., System.Appl. Microbiol., 9, str.138 až 141, 1987, patentový spis US 4,766.203, 1988).

Je toxický pouze vůči určitým larvám požírajícím listy (čeledi mandelinkovitých) (Chrysomelidae), avšak neúčinný vůči housenkám motýlů (Lepidoptera), moskytům (Diptera - dvoukřídlí) a jinému hmyzu.

Zjistilo se, že Bacillus thuringiensis je účinným činitelem při potírání larev mandelinky bramborové. Po pozření krystalů a spor z Bacillu thuringiensis nebo izolovaných krystalů přestávají larvy, a do jisté míry i dospělý hmyz, mandelinky bramborové (Leptinotarsa decemlineata) žrát. Larvální stadia L1-L3 hynou v rozmezí 1 až 3 dnů (Schnetter a kol. v pojednání "Fundamental and applied aspects of invertebrate pathology", eds. R.A. Samson a kol., Proceedings of the 4th Int. colloquium of Invertebrate Pathology, str. 555, 1986).

Účinnost B. thuringiensis poddr.tenebrionis a San Diego byla též potvrzena proti mandelince Xanthogaleruca luteola.

Bylo však též zjištěno, že B. thuringiensis, účinný vůči broukům, nevykazuje účinnost vůči všem druhům hmyzu čeledi mandelinkovitých (Chrysomelidae). Například bylo zjištěno, že není účinný vůči dřepčíku černému (Phyllotreta atra) a malému pruhovanému dřepčíku polnímu (Phyllotreta undulata), a má pouze menší účinnost vůči brouku škodícímu na okurkách (Diabrotica balteata) a chřestov-

ničku (Crioseres asparagi).

Pro boj se škodlivými brouky byly vyvinuty čtyři komerční produkty Bacillu thuringiensis. NOVODOR firmy Novo Biokontrol, Novo Nordisk A/S, TRIDENT firmy Sandoz a DiTerra firmy Abbot Laboratories Inc., všechny na bázi Bacillu thuringiensis, poddruh tenebrionis, a komerční produkt M-one firmy Mycogen Corporation na bázi blízko příbuzného kmene Bacillus thuringiensis poddruh San Diego.

Podstata vynálezu

Bylo zjištěno, že delta endotoxin mikroorganismu Bacillus thuringiensis, účinného vůči broukům, vykazuje účinnost vůči kohoutku černému Oulema melanopa (L.) (Lema melanopa (L.)).

Je proto předmětem vynálezu použití B. thuringiensis, účinného vůči broukům, nebo jeho delta endotoxinu pro boj proti kohoutku černému Oulema melanopa (L.) (Lema melanopa (L.)). Zpravidla se používá k ošetření trav, zejména obilovin.

Předmětem vynálezu je rovněž způsob boje proti kohoutku černému Oulema melanopa (L.) (Lema melanopa (L.)) spočívající v tom, že se na místa zamořená tímto broukem aplikuje účinné množství Bacillu thuringiensis nebo jeho delta endotoxinu.

Dalším předmětem vynálezu jsou insekticidní prostředky pro boj s kohoutkem černým Oulema melanopa (L.) (Lema melanopa (L.)).

Jak výše uvedeno, je prvním předmětem vynálezu použití produktů na bázi B. thuringiensis, účinného proti broukům, jako je například NOVODOR, pro boj proti kohoutku černému Oulema melanopa (L.) (Lema melanopa (L.)). Tento brouk napadá listy rostlin náležejících k travám (jednoděložné), a proto lze takovýto produkt použít k ochraně trav.

Ekonomicky obzvláště důležité jsou k travám patřící obiloviny, jako je pšenice, ječmen, oves, žito, rýže atd., kde použití produktů na bázi B. thuringiensis, účinného proti broukům, má obzvláštní význam.

Kohoutek černý Oulema melanopa (L.) (Lema melanopa (L.)) náleží do čeledi mandelinkovitých (Chrysomelidae). Je to známý vá-

žný škůdce rozšířený ve velkém měřítku po celém eurasijském kontinentě od Švédska na severu po zeměpisnou šířku Maroka a od Francie po Čínu, Severní Afriku a v severovýchodních částech USA.

Dalším předmětem vynálezu je způsob boje proti kohoutku černému Oulema melanopa (L.) (Lema melanopa (L.)), který spočívá v aplikaci účinného množství produktu na bázi B. thuringiensis, účinného vůči broukům, na místa zamořená tímto broukem. "Účinným množstvím" se zde rozumí jediná nebo opakovaná aplikace 0,5 litru na 1 ha až 8 litrů na 1 ha tekutých prostředků nebo 0,25 kg na 1 ha práškových nebo granulovaných prostředků.

Předmětem vynálezu je rovněž pesticidní prostředek nebo přípravek obsahující produkt na bázi Bacillu thuringiensis, účinného proti broukům, nebo jeho delta endotoxinu ve směsi s ředidlem nebo nosičem, vhodným se zemědělského hlediska, pro použití k boji proti kohoutku černému Oulema melanopa (L.) (Lema melanopa (L.)).

Prostředky podle vynálezu mohou mít jakoukoliv formu známou pro formulování agrochemikálií, například formu suspenze, disperze, vodné emulze, popraše, dispergovatelného prášku, emulgovatelného koncentrátu nebo granulátu. Nadto mohou mít podobu vhodnou pro přímou aplikaci, nebo koncentrátu nebo primárního prostředku, který před aplikací vyžaduje zředění vhodným množstvím vody nebo jiného ředidla.

Koncentrace insekticidně účinného delta endotoxinu Bacillu thuringiensis, použije-li se samotný nebo v kombinaci s jiným pesticidem, je při aplikaci na rostliny výhodně v rozmezí od asi 0,5 po asi 25 % hmot., zejména 1 až 15 % hmot.

Proparát na bázi B. thuringiensis, účinného vůči broukům, nebo prostředky podle vynálezu se mohou aplikovat přímo na rostlinu například jejím postřikáním nebo poprášením v době, kdy se škůdce začal objevovat na rostlině. Výhodným způsobem aplikace je postřik. K dosažení dobrých výsledků při potírání škůdce je obvykle důležité aplikovat prostředek v časných stádiích vývoje škůdce, protože toto nejúčinněji zabraňuje poškození úrody.

Vynález je blíže objasně dále uvedeným příkladem dokládajícím specifické provedení vynálezu. Tento příklad není možno pokládat za omezující rozsah vynálezu, jak je definován v patentových nárocích.

Příklad provedení vynálezu

Příklad 1

Účinnost produktu NOVODOR FC proti larválním stádiím L1 a L2 kohoutka černého Culema melanopa (L.) (Lema melanopa (L.)) byla zjišťována v polním pokusu. Při něm byl testovaný insekticid aplikován na různé užitkové plodiny, jak je dále uvedeno:

Produkt NOVODOR FC je vodný kapalný koncentrát formulovaný s mikrobiálními stabilizátory, detergenty a pomocnými suspenzními látkami.

Plodina:	jarní pšenice	2 odrůdy
	jarní ječmen	1 odrůda
	ozimá pšenice	2 odrůdy
	tritikale	8 odrůd

Pro porovnání byly testovány rovněž tři tradiční pesticidy DECIS (výrobek firmy Roussel Uclaf), KARATE (výrobek firmy ICI), a SUMIALFA (výrobek firmy SUMITOMO); všechny tři tyto pesticidy jsou známého pyrethroidního typu.

Všechny tyto pesticidy byly použity v jediné aplikaci v těchto dávkách:

<u>Produkt</u>	<u>Dávka</u> (litr.ha ⁻¹)
NOVODOR FC	2,5
NOVODOR FC	5,0
DECIS 2,5 EC	250 ml.ha ⁻¹
KARATE 2,5 EC	250 ml.ha ⁻¹
SUMIALFA 5 EC	200 ml.ha ⁻¹

v době vylihnutí 50 % larev.

Vyhodnocení se provádělo takto:

Byl zjištěn počet mrtvých a živých larev 1, 3, 5, 10 a 14 dní po postřiku, a procento mrtvých larev bylo vypočteno z průměru 13 pokusů při použití produktu NOVODOR FR a z průměru 3 pokusů při použití tradičních produktů.

Výsledky jsou uvedeny v Tabulce I.

TABULKA I

Produkt	Dávka litr.ha ⁻¹	% mrtvých larev (průměr z 13 opakování) po				
		1	3	5	10	14
		dnech				
NOVODOR FC	2,5	80	90	100	95	85
NOVODOR FC	5,0	80	95	100	100	85
Pyrethroidy prům. ze 3		100	100	100	100	100

Výsledky pozorování pro NOVODOR FC :	den 1:	larvy živé, avšak nemotilní				
	den 3:	mrtvé larvy mezi živými a nemotilními formami				
	den 5:	larvy většinou mrtvé, několik nemotilních forem				
	den 10:	většina listů bez larev; pozorováno několik larev ve stadiu L2 a L3				
	den 14:	pozorováno jen několik málo larev ve stadiu L3 a L4. Poškození listů zanedbatelné.				

Z uvedených výsledků je zřejmé, že NOVODOR FC při dávkách 2,5 a 5,0 litrů na 1 ha se velmi dobře osvědčil při potírání kohoutka černého Oulema melanopa (L.) (Lema melanopa (L.)), čímž se poškození listů, způsobené napadením těmito brouky, snížilo na zanedbatelnou míru.

Průmyslová využitelnost

Prostředek podle vynálezu je využitelný pro boj s kohoutkem černým Oulema melanopa (L.) (Lema melanopa (L.)), zejména na listech obilovin. Výsledky, získané jeho použitím, jsou velmi dobře srovnatelné s výsledky, dosaženými použitím známých pyrethoidů.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

785-91

PŘÍL.	PROVYNÁLEZY A OBJEVY	ÚŘAD	22. III. 91	013915	č. j.
-------	-------------------------	------	-------------	--------	-------

1. Použití alespoň jednoho poddruhu Bacilla thuringiensis, účinného proti broukům, nebo jeho delta endotoxinu k boji proti kohoutku černému Oulema melanopa (L.) (Lema melanopa (L.)).

2. Použití podle bodu 1, vyznačující se tím, že Bacillem thuringiensis, účinným proti broukům, je Bacillus thuringiensis poddruhu tenebrionis nebo Bacillus thuringiensis poddruhu San Diego, výhodně Bacillus thuringiensis poddruhu tenebrionis.

3. Použití podle bodu 1 nebo 2 na travách.

4. Použití podle bodů 1 až 3 na obilninách.

5. Způsob boje proti kohoutku černému Oulema melanopa (L.) (Lema melanopa (L.)), vyznačující se tím, že se rostliny napadené kohoutkem černým Oulema melanopa (L.) (Lema melanopa (L.)) ošetří účinným množstvím produktu na bázi Bacilla thuringiensis, účinného proti broukům.

6. Způsob podle bodu 5, vyznačující se tím, že produkt na bázi Bacilla thuringiensis, účinného proti broukům, se odvozuje od Bacilla thuringiensis poddruhu tenebrionis nebo od Bacilla thuringiensis poddruhu San Diego, s výhodou od Bacilla thuringiensis poddruhu tenebrionis.

7. Způsob podle bodu 6, vyznačující se tím, že se kapalný produkt aplikuje v množství od 0,5 litru na 1 ha do 8 litrů na 1 ha, s výhodou v množství 0,5 litru na 1 ha.

8. Způsob podle bodu 6, vyznačující se tím, že se sypaný práškový nebo granulovaný produkt aplikuje v množství od 0,25 kg na 1 ha do 5 kg na 1 ha, s výhodou v množství 0,5 kg na 1 ha až 2 kg na 1 ha.

9. Způsob podle bodu 6, vyznačující se tím, že se produkt v podobě smáčitelného prášku aplikuje v množství od 0,25 kg na 1 ha do 5 kg na 1 ha, s výhodou v množství 0,5 kg na 1 ha až 2 kg na 1 ha.

10. Způsob podle bodů 6 až 9, vyznačující se tím, že se produkt aplikuje opakovaně s intervaly.

11. Pesticidní prostředek pro boj s kohoutkem černým Culema melanopa (L.) (Lema melanopa (L.)), vyznačující se tím, že obsahuje delta endotoxin Bacillu thuringiensis, účinného proti broukům, ve směsi s vhodným nosičem.

12. Pesticidní prostředek podle bodu 11, vyznačující se tím, že obsahuje delta endotoxin Bacillu thuringiensis poddruhu tenebrionis nebo Bacillu thuringiensis poddruhu San Diego, s výhodou Bacillu thuringiensis poddruhu tenebrionis.

JUDr. Petr KALENSKÝ
advokát