



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2007110087/13, 19.03.2007

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
19.03.2007

(45) Опубликовано: 20.09.2008 Бюл. № 26

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: RU 2245033 C1, 27.01.2005. RU 2199214
C2, 27.02.2003. RU 2278159 C1, 20.06.2006. RU
2201679 C2, 10.04.2003. RU 2167528 C1,
27.05.2001. US 2006191034, 24.08.2006.

Адрес для переписки:

167982, Республика Коми, г.Сыктывкар, ул.
Коммунистическая, 28, Институт биологии Коми
НЦ УрО РАН, пат. пов. Л.Б. Печерской

(72) Автор(ы):

Маркарова Мария Юрьевна (RU),
Пахтуев Алексей Иванович (RU),
Акулинина Наталья Сергеевна (RU),
Терентьева Лариса Ивановна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

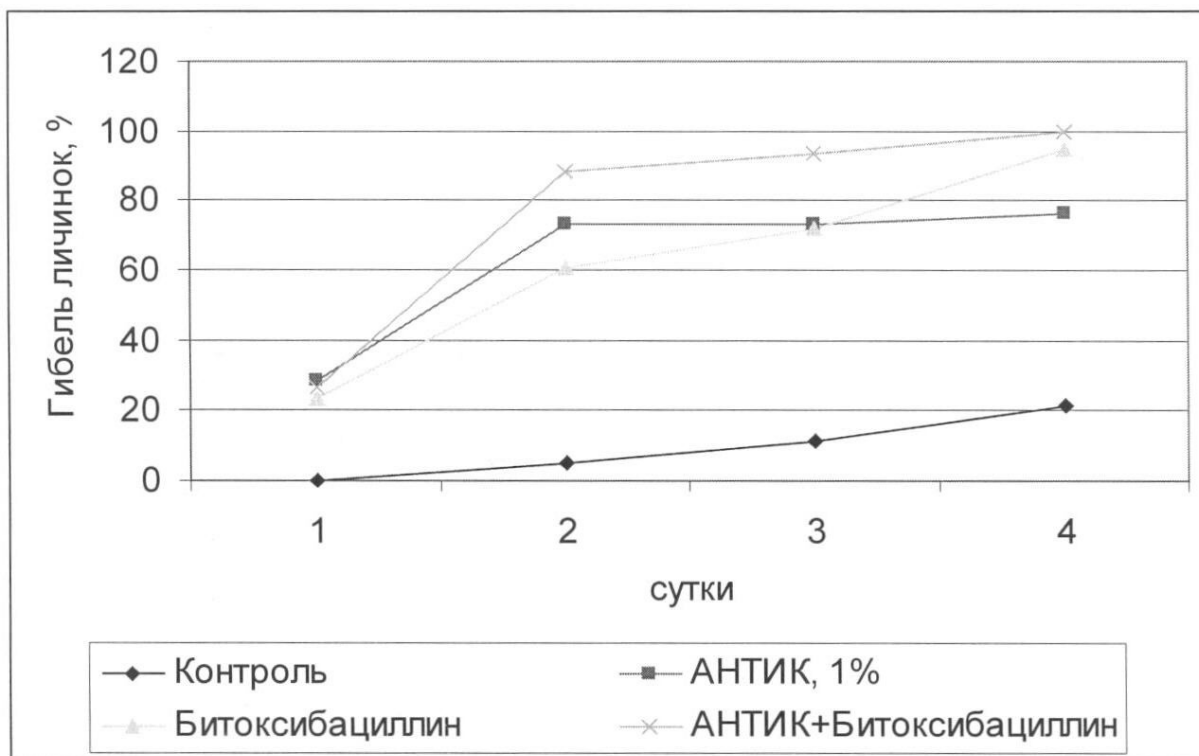
Институт биологии Коми научного центра
Уральского отделения Российской академии
наук (RU)

(54) СПОСОБ БОРЬБЫ С КОЛОРАДСКИМ ЖУКОМ И СРЕДСТВО ДЛЯ ЕГО ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

(57) Реферат:

Изобретение относится к биотехнологии,
сельскохозяйственной микробиологии.
Изобретение включает снижение порога
естественной защиты путем обработки вредителей
средством, содержащим биомассу штаммов
Rhodococcus equi B-1115, *Rhodococcus equi* B-1116

и дрожжей *Rhodotorula glutinis* B-1113 с титром
жизнеспособных клеток $1 \cdot 10^9$ кл/мл каждой
культуры, взятую в соотношении 1:1:1, с
последующей обработкой вредителей
энтомопатогенным биопрепаратом. Изобретение
позволяет повысить эффективность борьбы с
колорадским жуком. 2 н.п. ф-лы, 1 табл., 2 ил.



Фиг. 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(19) **RU** (11) **2 333 644** (13) **C1**

(51) Int. Cl.

A01N 63/02 (2006.01)

C12N 1/20 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: **2007110087/13, 19.03.2007**

(24) Effective date for property rights: **19.03.2007**

(45) Date of publication: **20.09.2008 Bull. 26**

Mail address:

**167982, Respublika Komi, g.Syktvykar, ul.
Kommunisticheskaja, 28, Institut biologii
Komi NTs UrO RAN, pat. pov. L.B. Pecherskoj**

(72) Inventor(s):

**Markarova Marija Jur'evna (RU),
Pakhtuev Aleksej Ivanovich (RU),
Akulinina Natal'ja Sergeevna (RU),
Terent'eva Larisa Ivanovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Institut biologii Komi nauchnogo tsentra
Ural'skogo otdelenija Rossijskoj akademii
nauk (RU)**

(54) **METHOD OF POTATO BEETLE ABATEMENT AND INSTRUMENT FOR ITS REALISATION**

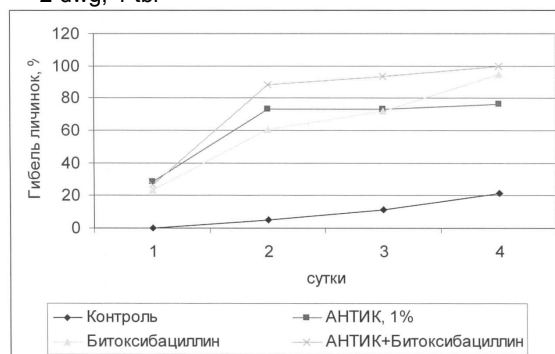
(57) Abstract:

FIELD: agriculture.

SUBSTANCE: invention refers to biotechnology, agricultural microbiology. The invention includes decrease of a natural protection threshold by treatment of the pests with an agent containing a biomass of *Rhodococcus eqvi* B-1115 strains, *Rhodococcus eqvi* B-1116 and *Rhodotorula glutinis* B-1113 yeast with $1 \cdot 10^9$ cells/ml titer of viable cells in each culture, taken in the ratio of 1:1:1 with further pest treatment with entomopathogenic biological product.

EFFECT: increase of potato beetle abatement efficiency.

2 dwg, 1 tbl



Фиг. 1

RU 2 333 644 C1

RU 2 333 644 C1

Изобретение относится к биотехнологии, сельскохозяйственной микробиологии, а именно к производству новых средств защиты растений против колорадского жука и других жесткокрылых насекомых-вредителей.

5 Известно, первое описание колорадского жука, как вредителя картофеля появилось в 1859 г. (штат Колорадо, США). Скорость расселения на Восток из Колорадо составила впоследствии 85 миль в год.

В настоящее время жук распространен повсеместно, в том числе в районах Крайнего Севера. За 1 мес жук уничтожает более 4 граммов листовой массы, личинка около 1 грамма. Средняя плодовитость самки - 700 яиц, численность потомков во втором 10 поколении 250000 экз., способных уничтожить более 1 т картофельной ботвы. За год производится 2-3 поколения.

Известен способ борьбы с колорадским жуком при возделывании картофеля с использованием химических препаратов - пестицидов, включающий обработку посевов пиретроидами (Воловик А.С., Глез В.М., Замотаев А.М. и др. "Защита картофеля от 15 болезней, вредителей и сорняков". Справочник. Агропромиздат, 1989).

Известный способ экологически не безопасен, существует высокий риск накопления химических веществ в почве и тканях растений, медленный распад и детоксикация. Кроме того, низкая эффективность применения в районах с мягким климатом и в закрытом 20 грунте, например действие пиретроидов снижается при повышенной температуре (выше 25°C).

В настоящее время известны и широко применяются различные микроорганизмы (бактерии и грибы, простейшие) для защиты растений от вредных насекомых и клещей («Микроорганизмы в борьбе с вредными насекомыми и клещами», ред. акад. М.С.Гиляров, М., Колос, 1976 г., «Патогены насекомых: структурные и функциональные аспекты», ред. 25 В.В.Глулов, М., 2001 г.). Микробные инсектицидные препараты, в отличие от химических препаратов, более безопасны для окружающей среды.

Известен препарат (патент RU 2199214), созданный на основе рекомбинантного штамма *Bacillus thuringiensis* IPM-37, который синтезирует β -эзотоксин и инсектицидный белок сгу 3А-типа. Препарат имеет жидкую форму следующего состава, мас. %: концентрат биомассы 30 штамма IPM-3784-97, стабилизатор (глицерин) 0,10, смачиватель (Тритон X-100, ОП-7 или аналогичный) 1-2, прилипатель (поливинилацетат) 1-2, загуститель - набухающий в воде полимер (сакап-акмид, поливиниловый спирт) 0,5-2,0, консервант (фенол) 0,3-0,5. Применяют препарат против колорадского жука в количестве 1-2 л/га.

Основным действующим принципом при использовании энтомопатогенных 35 биопрепаратов является прямое воздействие энтомопатогенов (грибов и бактерий) на насекомых, их органы и ткани. Однако в процессе эволюции насекомые-вредители выработали ряд приспособительных средств для защиты от естественных врагов и вредных факторов среды. В первую очередь - это мощная система восковой защиты 40 кожных покровов насекомых и их личинок, позволяющая противостоять таким факторам естественной среды обитания, как ультрафиолетовое излучение, перепады температуры и влажности воздуха. Наружный восковой покров целого ряда насекомых-вредителей способен также препятствовать попаданию на чувствительные внутренние покровы насекомых-вредителей (в первую очередь в дыхальца и трахеи) спор патогенных грибов. Это создает определенные проблемы при борьбе с вредителями с использованием 45 биопрепаратов энтомопатогенного действия.

Известен способ борьбы с колорадским жуком (RU 2245033), выбранный за прототип, заключающийся в том, что в качестве действующего вещества применяют банкол (бисултап) с эмпирической формулой $C_{17}H_{21}NO_4S_4$, который подавляет передачу сигналов в центральной нервной системе насекомых, от чего они первоначально теряют 50 двигательную активность, прекращают питание, затем погибают.

Недостатком указанного аналога является низкая эффективность для насекомых с высоким уровнем адаптивных защитных приспособлений, длинный период между заражением насекомого и эффектом поражения.

Задачей изобретения является разработка более безопасного и эффективного способа борьбы с колорадским жуком.

Технический результат состоит в разработке нового средства, позволяющего снизить порог естественной защиты насекомых посредством использования способности консорциумов нефтеокисляющих микроорганизмов активно разрушать парафиноподобные вещества в короткий промежуток времени. Способ и средство позволяют резко повысить эффективность традиционных биопрепаратов, уменьшить химическую нагрузку на растения.

Технический результат достигается тем, что средство для борьбы с колорадским жуком и его личинками содержит биомассу штаммов *Rhodococcus equi* В-1115, *Rhodococcus equi* В-1116 и дрожжей *Rhodotorula glutinis* В-1113 с титром жизнеспособных клеток 1×10^9 кл/мл каждой культуры, взятую в соотношении 1:1:1.

Технический результат достигается тем, что в способе борьбы с колорадским жуком и его личинками, включающем обработку вредителей инсектицидом, согласно изобретению предварительно снижают порог естественной защиты путем обработки вредителей вышеуказанным средством, при этом в качестве инсектицида используют энтомопатогенный биопрепарат.

Нами выявлено, что устойчивость колорадского жука к известным средствам борьбы определяется мощной защитой потенциально поражаемых тканей насекомых восковым налетом.

Новый препарат получали на примере применения в качестве действующего вещества биомассы штаммов: *Rhodococcus equi* 34-1 (28-99/2), *Rhodococcus equi* У7-28 (К2№ 7), *Rhodotorula glutinis* 55-1-Р с титром жизнеспособных клеток не ниже 1×10^9 кл/мл каждой культуры, взятых при соотношении 1:1:1, соответственно.

Штаммы из бактерий *Rhodococcus equi* - штаммы 34-1 (28-99/2), У7-28 (К2№ 7) и дрожжей *Rhodotorula glutinis* - штаммы 55-1-Р депонированы в НИИ «Коллекция культур микроорганизмов» ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор» с присвоением регистрационных номеров соответственно: В-1115, В-1116, В-1113 (копии свидетельств о депонировании прилагаются).

Жидкие концентраты микроорганизмов посредством центрифугирования смешивали при эффективном соотношении с прилипателем, стабилизатором, поверхностно-активным веществом (ПАВ) и активаторами (МК, КМЦ, ЛС, глицерин, гуamat натрия).

Для приготовления концентратов культуральной жидкости микробных культур препарата каждую культуру выращивают на жидкой питательной среде следующего состава:

| | | |
|----|------------------------------------|---------|
| 35 | меласса | 2,5% |
| | дрожжи пекарские (автолизат) | 0,8% |
| | магний сернокислый | 0,05% |
| | аммоний сернокислый | 1,5% |
| | калий фосфорнокислый двузамещенный | 0,5% |
| | натрий хлористый | 0,005% |
| 40 | pH | 6,5-7,5 |

Культуры выращивают в колбах или аппаратах при температуре 28-30°C, аэрации и перемешивании.

При достижении титров культур не ниже 10^8 кл/мл проводят концентрирование культуральной жидкости на центрифуге для получения биомассы с титром жизнеспособных клеток не ниже 10^9 кл/мл. Полученные концентраты берут в равных количествах и перемешивают в аппаратах с мешалкой. При перемешивании в суспензию микроорганизмов вводятся минеральные компоненты (взятые по объему), например: мочевины 7%, аммоний фосфорнокислый 7%. Затем в полученную смесь вводят карбоксиметилцеллюлозу (КМЦ) - 0,2%, поверхностно-активное вещество - 0,25%, лигносульфонат - 6%, консервант - глицерин - 7,5%, гуamat натрия - 0,0075%.

Полученный препарат представляет собой однородную гелиевую субстанцию.

Препарат, изготовленный в производственных условиях, получивший название

АНТИК, имеет следующие характеристики: срок хранения - 12 мес, титр 10^9 кл/мл, жизнеспособность в природных условиях - до 2-х лет. В условиях завода отработаны оптимальные режимы изготовления биопрепарата по простой и экономически выгодной технологии с сохранением биологической активности в течение длительного времени.

5 С целью обоснования эффективности препаратов нефтеокисляющего действия для снижения сопротивляемости колорадского жука к неблагоприятным факторам среды нами проведены эксперименты по применению нового препарата в комплексе с действием некоторых известных инсектицидов в условиях закрытого и открытого грунта.

10 Биологическая эффективность препаратов и их смесей против личинок колорадского жука и влияние биопрепаратов на численность имаго колорадского жука приведены в таблице 1 и на фиг.1.

| Варианты опыта | Таблица 1 | | | | | | | | | |
|-------------------------|---|------|------|------|------|------|----------------|------|------|------|
| | Численность имаго колорадского жука, экз. | | | | | | Гибель личинок | | | |
| сутки | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Контроль | 20,0 | 19,0 | 17,7 | 15,7 | 15,7 | 15,7 | 0 | 5 | 11,5 | 21,5 |
| АНТИК, 1% | 14,3 | 5,3 | 5,3 | 4,7 | 4,7 | 2,0 | 28,5 | 73,5 | 73,5 | 76,5 |
| Битоксибациллин | 15,3 | 2,3 | 1,0 | 0 | 0 | 0 | 23,5 | 60,5 | 72,0 | 85,0 |
| АНТИК + Битоксибациллин | 14,7 | 2,3 | 1,3 | 0 | 0 | 0 | 26,5 | 88,5 | 93,5 | 100 |

15 Препарат АНТИК брали в количестве 1%. Обработке подвергали непосредственно насекомых и корм (листья картофельной ботвы).

Обработка вредителей консорциумом штаммов нефтеокисляющих микроорганизмов снижает порог защиты насекомых, разрушая наружный восковый покров.

20 Штамм *Rhodococcus equi* 34-1 (28-99/2) обеспечивает внутриклеточное окисление алканов нормального и разветвленного строения, выделение в окружающую среду биосуфрактантов (ПАВ), имеет высокий уровень дегидрогеназной активности.

25 Штамм *Rhodococcus equi* У7-28 (K2№ 7) обеспечивает внеклеточное окисление широкого спектра углеводов, высокий уровень липазной активности.

30 Штамм *Rhodotorula glutinis* 55-1-Р обеспечивает внеклеточное соокисление ароматических и полиароматических углеводов и тяжелых парафинов, высокий уровень протеазной активности.

Энтомоцидная активность средства АНТИК на личинок колорадского жука на 4 сутки составляла 76,5%, а в смеси АНТИКа с битоксибациллином - 100%. При этом накопления токсинов после применения препарата не выявлено ни в тканях растений, ни в почве.

35 Таким образом, препарат АНТИК эффективен в закрытом и открытом грунте в температурном диапазоне от +10 до +45 градусов, не зависит от перепадов влажности воздуха и позволяет повысить эффективность традиционных инсектицидов, уменьшить загрязнение окружающей среды, повысить эффективность борьбы с колорадским жуком (см. фиг.2).

40 Формула изобретения

1. Средство для борьбы с колорадским жуком и его личинками, содержащее биомассу штаммов *Rhodococcus equi* В-1115, *Rhodococcus equi* В-1116 и дрожжей *Rhodotorula glutinis* В-1113 с титром жизнеспособных клеток $1 \cdot 10^9$ кл/мл каждой культуры, взятую в соотношении 1:1:1.

45 2. Способ борьбы с колорадским жуком и его личинками, включающий обработку вредителей инсектицидом, отличающийся тем, что предварительно снижают порог естественной защиты путем обработки вредителей средством по п.1, при этом в качестве инсектицида используют энтомопатогенный биопрепарат.

50



Фиг. 2