



(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.07.24(51) Int. Cl. A01N 25/00 (2006.01)
A01N 63/04 (2006.01)
A01P 7/04 (2006.01)(22) Дата подачи заявки
2021.10.06

(54) БИОЛОГИЧЕСКИЙ ГРИБНОЙ ПЕСТИЦИД, ЭФФЕКТИВНЫЙ ПРОТИВ МНОГИХ РАЗНЫХ ВИДОВ НАСЕКОМЫХ

(31) 63/087,922; 17/490,173

(32) 2020.10.06; 2021.09.30

(33) US

(86) PCT/US2021/053795

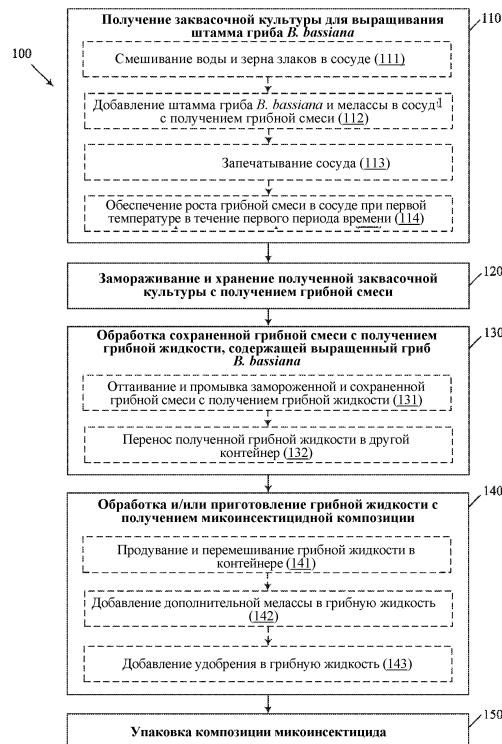
(87) WO 2022/076577 2022.04.14

(71)(72) Заявитель и изобретатель:
СИГУРДСОН ДЖОН ТОМАС (US)

(74) Представитель:

Билык А.В., Поликарпов А.В.,
Соколова М.В., Путинцев А.И.,
Черкас Д.А., Игнатьев А.В., Дмитриев
А.В., Бучака С.М., Бельтюкова М.В.
(RU)

(57) Предложены композиции и способы контроля насекомых. В одном примере способ получения микоинсектицидной композиции включает: получение заквасочной культуры для выращивания штамма гриба *B. bassiana*; замораживание и хранение приготовленной заквасочной культуры с получением грибной смеси; обработка сохраненной грибной смеси с получением грибной жидкости, содержащей выращенный гриб *B. bassiana*; обработка и/или приготовление грибной жидкости с получением микоинсектицидной композиции; и упаковка микоинсектицидной композиции. Гриб *B. bassiana* предпочтительно представляет собой штамм JTDRL-RC5A-HSSE, депонированный под номером 67768 NRRL.



БИОЛОГИЧЕСКИЙ ГРИБНОЙ ПЕСТИЦИД, ЭФФЕКТИВНЫЙ ПРОТИВ МНОГИХ РАЗНЫХ ВИДОВ НАСЕКОМЫХ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННУЮ(ЫЕ) ЗАЯВКУ(И)

Данная заявка подается 6 октября 2021 г. в виде международной патентной заявки РСТ, и в ней испрашивается преимущество и приоритет относительно заявки на патент США № 17/490173, поданной 30 сентября 2021 г., озаглавленной «БИОЛОГИЧЕСКИЙ ГРИБНОЙ ПЕСТИЦИД, ЭФФЕКТИВНЫЙ ПРОТИВ МНОГИХ РАЗНЫХ ВИДОВ НАСЕКОМЫХ», в которой испрашивается преимущество и приоритет относительно предварительной заявки на патент США № 63/087922, поданной 6 октября 2020 г, озаглавленной «БИОЛОГИЧЕСКИЙ ГРИБНОЙ ПЕСТИЦИД, ЭФФЕКТИВНЫЙ ПРОТИВ МНОГИХ РАЗНЫХ ВИДОВ НАСЕКОМЫХ», раскрытия которых тем самым включены посредством ссылки во всей их полноте. В подходящей степени приоритет заявлен относительно каждой из раскрытых выше заявок.

ПРЕДШЕСТВУЮЩИЙ УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Насекомые могут иметь отрицательное влияние на многие растения. При оставлении без проверки конкретные виды насекомых могут оказывать опустошительное влияние на большие популяции растений. В качестве лишь одного примера, сосновые жуки-точильщики убили миллионы деревьев в Северной Америке. Оценивается, что в одной Калифорнии с 2010 по 2018 гг. погибло 147 миллионов деревьев. Сосновые жуки-точильщики убивают в Британской Колумбии больше здоровых взрослых сосен, чем лесозаготовка и природные пожары, вместе взятые.

Существующие методы обработки против таких инвазивных насекомых включают микоинсектициды, в которых используется гриб *Beauveria bassiana*. Однако такие композиции для обработки предназначены для применения в малом масштабе. Необходимо эффективное крупномасштабное решение для борьбы с широко распространенными поражениями насекомыми.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В общем настоящее изобретение относится к композициям для обработки растений, пораженных вредными насекомыми, способу их получения и применения.

В одном аспекте согласно настоящему изобретению предложен способ получения микоинсектицидной композиции. В одном примере данный способ включает следующее: получение заквасочной культуры для выращивания штамма гриба *B. bassiana*, замораживание и хранение приготовленной заквасочной культуры с получением грибной смеси; обработка сохраненной грибной смеси с получением грибной жидкости, содержащей выращенный гриб *B. bassiana*; обработка и/или приготовление грибной жидкости для получения микоинсектицидной композиции; и упаковка данной микоинсектицидной композиции.

В некоторых воплощениях получение заквасочной культуры дополнительно включает следующее: добавление воды к злаковому зерну в сосуде, и обеспечение замачивания злакового зерна водой; добавление гриба *B. bassiana* и источника глюкозы с получением грибной смеси, имеющей содержание глюкозы от примерно 4 до примерно 6% на основе общей массы грибной смеси; и обеспечение роста грибной смеси в сосуде в течение от примерно 10 до примерно 30 суток при температуре от примерно 70 до примерно 80°F (от 21,1 до примерно 26,7°C).

В некоторых воплощениях данную грибную смесь замораживают и хранят при температуре от примерно -22 до примерно 0°F (от примерно -30 до примерно -17,8°C).

В некоторых воплощениях обработка хранящейся грибной смеси дополнительно включает следующее: оттаивание и промывка грибной смеси жидкостью на водной основе с получением грибной жидкости; и фильтрование грибной жидкости и хранение грибной жидкости в контейнере.

В некоторых воплощениях обработка и/или приготовление грибной жидкости дополнительно включает следующее: добавление источника глюкозы для повышения общего содержания глюкозы грибной жидкости до от примерно 6 до примерно 8% на основе общей массы грибной жидкости; добавление удобрения в грибную жидкость; и продувание, и перемешивание грибной жидкости в контейнере в течение от примерно 10 до примерно 60 суток.

В некоторых воплощениях источником глюкозы является меласса.

В некоторых воплощениях гриб *B. bassiana* представляет собой штамм JTDR-RC5A-HSSE, депонированный под номером 67768 NRRL.

В некоторых воплощениях злаковое зерно включает рис и ячмень.

В другом аспекте согласно настоящему изобретению предложена микоинсектицидная композиция. Данная микоинсектицидная композиция содержит

гриб *Beauveria bassiana* штамма JTDRL-RC5A-HSSE, депонированный под номером 67768 NRRL. В некоторых воплощениях микоинсектицидная композиция представляет собой продукт, полученный описанными здесь способами.

В другом аспекте согласно настоящему изобретению предложен способ обработки растений для предупреждения повреждения насекомыми. В одном примере данный способ включает следующее: получение описанной здесь микоинсектицидной композиции; и нанесение данной микоинсектицидной композиции на растения посредством распыления.

Данные растения могут представлять собой деревья, включая сосны, или кустарники, включая растения кофе. Данные насекомые могут представлять собой жуков-точильщиков, включающих кофейных жуков-точильщиков или сосновых жуков-точильщиков.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

На ФИГ. 1 проиллюстрирована блок-схема одного конкретного типичного способа 100 получения микоинсектицидной композиции согласно разным воплощениям настоящего изобретения.

На ФИГ. 2 проиллюстрирована блок-схема одного конкретного типичного способа 200 контроля насекомых согласно разным воплощениям настоящего изобретения.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Здесь предложено новое грибное средство биологического контроля, которое является патогенным для многих видов инвазивных насекомых. Настоящее изобретение направлено на композиции и способы лечения растений, пораженных вредными насекомыми. Уникальные композиции включают конкретный штамм *Beauveria bassiana*. Данный живой гриб является патогенным для разных видов насекомых, вызывая белую мускардиновую болезнь. При приведении спор данного гриба в контакт с кутикулой (кожей) чувствительных насекомых они прорастают и растут прямо через кутикулу во внутреннюю часть организма их хозяина. Данные композиции распыляются над пораженными областями, и гриб прикрепляется к насекомым. По мере того, как споры прорастают, и растут нити мицелия, гриб проникает через слои кутикулы насекомого-мишени. В некоторых случаях насекомые проглатывают гриб, позволяя ему умерщвлять хозяина изнутри.

Насекомые-мишени и пораженные растения

Описанные здесь способы и композиции можно применять ко множеству вредных насекомых. Некоторые ключевые мишени включают кофейного жука, соснового точильщика, робиниевого и бататного жука.

Кофейный жук

Кофейные жуки, также известные как точильщики кофейного дерева (*Hypothenemus hampei*), представляют собой насекомых, которые поражают и кормятся на растениях кофе. В частности, эти маленькие черные жуки внедряются в ягоду кофе. Данные жуки происходят из Африки, но распространились во все страны, где выращивают культурные растения кофе, что делает их одними из самых опасных вредителей растений кофе. Традиционные пестициды в основном не являются успешными в контроле кофейных жуков, так как они эффективны только до внедрения данных насекомых в ягоды кофе.

Сосновые точильщики/короеды

Существуют свыше 2000 видов короедов, 600 из которых можно найти в Соединенных Штатах. Короеды представляют собой крошечных насекомых с жесткими цилиндрическими тельцами, которые размножаются под корой деревьев. Данные жуки могут повреждать корни, стебли, семена и плоды деревьев. Лубоед сосны горной (*Dendroctonus ponderosae*), лубоед сосновый южный (*Dendroctonus frontalis*) и их близкие родственники являются важными вредителями хвойных лесов в Северной Америке. Аналогично агрессивным видом в Европе является короед-типограф (*Ips typographus*). Он вызвал широко распространенное повреждение лесов. Это, в свою очередь, создавало большую пожароопасность.

Саранча

Полчища саранчи терроризировали Восточную Африку в 2020 г. Опустошительные эффекты данных скоплений не только истребляют акры (0,405 га) растений, но также отбирают ключевые источники пищи для домашнего скота и людей. Фермеры пытались бороться с данными полчищами химическими пестицидами, но они вызывают обеспокоенность относительно влияния на среду и здоровье.

Пустынную саранчу или *Schistocerca gregaria* небезосновательно часто называли самым опустошительным в мире вредителем. Скопления образуются при увеличении численности саранчи, и они сбиваются в стаи. Это вызывает переключение от относительно безвредной одиночной фазы до стайной социальной фазы. В данной фазе насекомые способны размножаться в 20 раз за три месяца и достигать плотности 80

миллионов на квадратный километр. Каждое может потреблять 2 г растительной массы каждые сутки – совместно скопление из 80 миллионов может потреблять эквивалент пищи, съедаемой 35000 человек в сутки.

Бататовый жук

Бататовый жук (*Physomerus grossipes*) представляет собой сосущее насекомое. Они пронзают ртом растения, на которых они кормятся, и высасывают сок. В то время как небольшое число данных жуков не будет вызывать большого повреждения, большие поражения могут вызывать пожелтение и увядание у растений, делая их более чувствительными к другим вредителям и заболеваниям. Бататовый жук является относительно новым прибывшим на Гавайские острова. Данные жуки являются совершенно устойчивыми к химическим спреям, делая их идеальной мишенью для биологического контроля. Исходный анализ показал то, что *B. bassiana* является эффективной в искоренении данных жуков.

В следующей таблице (Таблица 1) приводится примерный список дополнительных видов насекомых и ассоциированных видов деревьев-мишеней.

Таблица 1

Вид	Пораженные деревья	Поколений в год	Комментарии
Кедровые и кипарисовые короеды (виды <i>Phloeosinus</i>)	туя, кипарис, кипарисовик (<i>Chamaecyparis</i>), можжевельники и секвойя	от 1 до 2	ходы имеют сходство с многоножкой на поверхности древесины и луба; взрослые особи кормятся на и умерщвляют ветви; яйцекладущие самки привлекаются к стволу мертвых или сохнувших деревьев
Большие ильмовые заболонники (<i>Scolytus multistriatus</i> , <i>Scolytus schevyrewi</i>)	вязы	2	на протяжении зимы в виде полностью выросшей личинки в коре; пробоины в коре указывают на повреждение; откладывают яйца в листовых пластинках и стволе поврежденных, ослабленных или недавно спиленных

			язов; распространяют грибок, вызывающий голландскую болезнь язвов
Короеды (<i>Ips emarginatus</i> , <i>Ips mexicanus</i> , <i>Ips paraconfusus</i> , <i>Ips pini</i> , <i>Ips plastographus</i>)	сосны	от 1 до 5	на протяжении зимы в виде взрослых; часто делают ходы в форме вилочковой кости; атакуют сосны около вершины ствола
Пихтовый короед (<i>Scolytus ventralis</i>)	Дугласова пихта и пихта одноцветная	от 1 до 2	на протяжении зимы в виде личинки; взрослые высверливают глубокие и длинные галереи из двух ветвей поперек волокон заболони
Лубоед Джеффри (<i>Dendroctonus jeffreyi</i>)	Сосна Джеффри	от 1 до 2	атакует среднюю часть ствола больших деревьев, от 1,5 до примерно 9 м; делает длинные ходы в форме J, на протяжении зимы в виде личинки в лубе
Короед средиземноморских сосен (<i>Orthotomicus</i> [ранее <i>Ips</i>] <i>erosus</i>)	сосна	от 3 до 4	поражает ствол и крупные ветви средиземноморских сосен, особенно сосны алеппской (<i>Pinus halepensis</i>) и пинии (<i>Pinus pinea</i>)
Лубоед сосны горной (<i>Dendroctonus ponderosae</i>)	сосна, часто на <i>Pinus contorta</i> и сахарной сосне	от 1 до 2	атакует среднюю часть ствола больших деревьев, от 1,5 до примерно 9 м; делает длинные ходы в форме J, на протяжении зимы в виде личинки в лубе
Древесинники дубовые (виды <i>Monarthrum</i>); дубовые короеды (виды <i>Pseudopityophthorus</i>)	конский каштан, дубы и дуб каштановый	2 или больше, чем 2	на протяжении зимы под корой; выпускающие сок, пенистые, образующие пузырьки отверстия с буровой мукой указывают на

			повреждение; атакуют деревья в состоянии стресса
Короед сосны красноволосой (<i>Hylurgus ligniperda</i>) ¹	сосна	от 2 до 3	считается, что предпочитают корни и нижние части стволов наклоненных алеппской сосны и сосны Канарских островов (<i>Pinus canariensis</i>)
Лубоед красный скипидарный (<i>Dendroctonus valens</i>)	сосны, редко на лиственнице, ели или белой пихте	от 0,5 до 2	атакует нижние 0,6-2,4 м ствола и крупные корни; на коре появляются смоляные трубы; на протяжении зимы в виде взрослых и личинок; редко убивают деревья
Заболонник морщинистый (<i>Scolytus rugulosus</i>)	лавровишня, плодовые деревья, боярышник и другие древесные растения	2 или больше, чем 2	на поражение указывает выделение камеди древесными частями, появление буровой муки или экзантема ветвей; удаляет и разрушает пораженные части
Короеды (<i>Pityophthorus carmeli</i> , <i>Pityophthorus juglandis</i> , <i>Pityophthorus nitidulus</i> , <i>Pityophthorus setosus</i>)	сосна, грецкий орех	2 или больше, чем 2	атакуют боковые части побегов и ветви, могут образовать мины в сердцевине; сосновые виды ассоциированы с передачей рака сосны; на грецком орехе <i>Pityophthorus juglandis</i> ассоциирован с передачей многочисленных раковых заболеваний
Лубоед желтой сосны (<i>Dendroctonus brevicomis</i>)	Сосна Культера и сосна желтая	от 2 до 4	атакует среднюю часть ствола, затем распространяется вверх и вниз; личинки кормятся на лубе, заканчивают развитие во внешнем слое коры;
Еловые лубоеды			

	ель Энгельмана, белая ель, ель ситхинская, редко черная ель		атакуют в сочетании с другими вредителями
Лубоед лжетсуговый (<i>Dendroctonus pseudotsugae</i>)	Лжетсуга Мензиса и, время от времени, угнетенная лиственница западная		
Короед, виды рода <i>Ips</i>	Самые критические атаки наблюдаются на белой ели и ели Энгельмана, и сосне (<i>Pinus contorta</i>) и желтой сосне		
Лубоед карликовой сосны (<i>Dendroctonus turryanae</i>)	Сосна (<i>Pinus contorta</i>)		
Короед-лесовик пихты бальзамической (<i>Dryocoetes confuses</i>)	Главным образом, пихта субальпийская, но, время от времени, пихта миловидная. Регистрировали некоторые атаки белой ели и ели Энгельмана		

Другие насекомые, которые являются вредными для растений, включают точильщиков и долгоносиков, таких как следующие: лубоеды ясеневые (виды рода *Hylesinus*), древесинники (*Xyleborinus saxesenii*), коноплевый долгоносик (*Rhinoncus pericarpus*), совки (*Parairaema nebr*), коноплевые точильщики (*Grapholita delineana*), огневки кукурузные (ЕСВ) (*Ostrinia nubilalis*) и коноплевые земляные блошки (*Psylliodes attenuate*). Другие примеры потенциальных насекомых-мишеней включают: тлю, ложнощитовок усоногоподобных, широких клещей и клещей Рассета, гусениц и пядениц, сверчков, грибных комариков, кузнечиков, цикадок, минирующих мушек, мучнистых червецов, слизней / улиток, паутиных клещиков, трипсов и белокрылок, но не ограничиваются ими. Все из описанных здесь насекомых могут служить в качестве мишени описанных здесь средств биологического контроля. В некоторых воплощениях мишенями данных микоинсектицидов могли бы быть дополнительные насекомые.

Микоинсектицидная композиция

Композиции по настоящему изобретению включают гриб *Beauveria bassiana*, выбранный из 31 возможного штамма. Некоторые являются более эффективными для применения в качестве биопестицидов, чем другие. В некоторых воплощениях данный гриб представляет собой штамм JTDRL-RC5A-HSSE. Гриб, включенный в данную композицию, находится как в виде спор, так и мицелия. Посредством включения двух форм гриба повышаются шансы, что данный гриб будет расти и распространяться при его нанесении. Одним преимуществом включения мицелия (вместо одних спор) является то, что данный гриб будет видимо быстрее распространяться, указывая на то, что было нанесено эффективное количество.

В композиции, которые будут непосредственно наноситься на растения, также могут быть включены диатомовая земля и удобрение. Данные ингредиенты усиливают эффективность биопестицида и также обеспечивают растения другими полезными свойствами для усиления роста и жизнеспособности растений.

Предпочтительным штаммом *B. bassiana*, используемым для биоконтроля, является штамм JTDRL-RC5A-HSSE. Депонирование данного штамма было сделано в Международный депозитарный орган коллекции культур для сельскохозяйственных исследований с номером 67768 NRRL.

Последовательность ДНК β-тубулина JTDRL-RC5A-HSSE:

GGTGCTGCTTTCTGGCAGACCATCTCTGGCGAGCACGGCCTCGACTCCAGC
GGTGTTTACAATGGCACTTCTGAGCTTCAGCTCGAGCGCATGAATGTCTACTTCA
ACGAGGTTTGTGTGCCCTCCCAACGCGTTGCTTGATTTTCGTTGTGGATACTGACC
GCGATTTTCCATAGGCCTCCGGCAACAATATGTACCTCGCGCCGTCCTCGTCGA
TCTTGAGCCCGGTACCATGGATGCTGTCCGTGCCGGTCCCTTCGGTCAGCTCTTCC
GTCCCGACAACCTTCGTTTTTCGGTCAGTCCGGTGCCGGCAACAACCTGGGCCAAGGG
TCACTACACTGAGGGT

Последовательность ДНК D1/D2 JTDRL-RC5A-HSSE:

TAGCGGAGGAAAAGAAACCAACAGGGATTGCCCCAGTAACGGCGAGTGA
AGCGGCAACAGCTCAAATTTGAAATCTGGCTCTCAGGGCCCGAGTTGTAATTTGT
AGAGGATGCTTTTGGCGAGGTGCCTTCCGAGTTCCTGGAACGGGACGCCACAGA
GGGTGAGAGCCCCGTATGGTCGGACACCGAGCCTCTGTAAAGCTCCTTCGACGAG
TCGAGTAGTTTGGGAATGCTGCTCAAAATGGGAGGTATATGTCTTCTAAAGCTAA
ATATTGGCCAGAGACCGATAGCGCACAAGTAGAGTGATCGAAAGATGAAAAGCA
CTTTGAAAAGAGGGTTAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGCGCCTATG

ACCAGACTTGCGCCCGGTGAATCACCCAGCGTTCTCGCTGGTGCACTTTGCCGGG
CACAGGCCAGCATCAGTTCAGCGCGGGGGAGAAAGGCTTCGGGAATGTGGCTCC
CTCGGGAGTGTTATAGCCCGCTGCGTAATGCCCTGCGCCGGACTGAGGTACGCGC
ATTGCAAGGATGCTGGCGTAATGGTCATCAGCGACCCGTCTTGA

Последовательность ДНК области ITS JTDRL-RC5A-HSSE:

TGGAAGTAAAAAGTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGA
TCATTACCGAGTTTTCAACTCCCTAACCTTCTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTC
GGCGGACTCGCCCCAGCCCGGACGCGGACTGGACCAGCGGCCCGCCGGGGACCT
CAAACCTTTGTATTCCAGCATCTTCTGAATACGCCGCAAGGCAAAACAAATGAAT
CAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAA
ATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGC
ACATTGCGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTCAACC
CTCGACCTCCCCTGGGGGAGGTCGGCGTTGGGGACCGGCAGCACACCGCCGGCC
CTGAAATGGAGTGGCGGCCCGTCCGCGGCGACCTCTGCGTAGTAATACAGCTCGC
ACCGGAACCCCGACGCGGCCACGCCGTAACACCCAACTTCTGAACGTTGACCT
CGAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAA

Способ получения

В некоторых аспектах согласно настоящему изобретению предложен способ получения микоинсектицидной композиции. На ФИГ. 1 показана блок-схема одного конкретного примера способа 100. В проиллюстрированном примере способ 100 включает по меньшей мере одну из операций 110, 120, 130, 140, 150 или любой их комбинации. Операция 110 включает получение заквасочной культуры для роста штамма гриба *B. bassiana*. Операция 120 включает замораживание и хранение полученной заквасочной культуры в течение определенного периода времени для получения грибной смеси. Операция 130 включает обработку сохраненной грибной смеси для получения грибной жидкости, содержащей выращенный гриб *B. bassiana*. Операция 140 включает обработку и/или приготовление грибной жидкости для получения микоинсектицидной композиции. Операция 150 включает упаковку данной микоинсектицидной композиции.

В 110 получают заквасочную культуру, и гриб *B. bassiana* сначала выращивают из данной заквасочной культуры. Операция 110 может дополнительно включать операции 111, 112, 113 и 114. Операция 111 включает смешивание в сосуде воды и злакового зерна. Операция 112 включает добавление штамма гриба *B. bassiana* и мелассы

в сосуд с образованием грибной смеси. Операция 113 включает запечатывание сосуда. Операция 114 включает обеспечение роста грибной смеси в сосуде при первой температуре в течение первого периода времени.

В 111 сосуд заполняют водой и злаковым зерном, и злаковое зерно замачивают в воде в течение определенного периода времени.

В некоторых воплощениях злаковое зерно выбирают из одного или более чем одного из риса, ячменя, кукурузы, пшеницы, сорго, просо, овса, ржи и фонио. В некоторых воплощениях злаковое зерно включает рис. В некоторых воплощениях к ячменю добавляют рис. В некоторых воплощениях злаковое зерно замачивают в воде в течение по меньшей мере примерно 0,5 часа или по меньшей мере примерно 1 часа, по меньшей мере примерно 2 часов, по меньшей мере примерно 3 часов, по меньшей мере примерно 4 часов, по меньшей мере примерно 5 часов или по меньшей мере примерно 10 часов. В некоторых воплощениях злаковое зерно замачивают в воде в течение от примерно 1 до примерно 10 часов или от примерно 2 до примерно 6 часов, или от примерно 2 до примерно 4 часов. В некоторых воплощениях гриб выращивают в сосуде, который содержит 5 фунтов (2,27 кг) сухой массы субстрата, который затем замачивают в воде в течение приблизительно двух часов перед инокуляцией данного субстрата.

В некоторых воплощениях данный сосуд выбран из одного или более чем одного из ведра, емкости, мешка и чана. В некоторых воплощениях используют мешок для грибов и выкладывают горизонтально во время процесса выращивания. В некоторых воплощениях данный сосуд может содержать по меньшей мере 1 галлон (4,54 л) жидкого содержимого. В некоторых воплощениях данный сосуд может содержать по меньшей мере 2 галлона (9,08 л), по меньшей мере 3 галлона (13,62 л), по меньшей мере 5 галлонов (22,7 л) или по меньшей мере 10 галлонов (45,4 л) содержимого. В воплощениях, где для получения больших партий используют больший сосуд, размер данного сосуда выбирают пропорционально количеству фунтов (килограммов) использованного зерна.

В 112 насыщенное водой злаковое зерно инокулируют грибом *B. bassiana*, который добавляют в данный сосуд. Предпочтительным штаммом гриба *B. bassiana* является штамм JTDRL-RC5A-HSSE согласно настоящему изобретению. В 112 в сосуд, наряду с грибом, также добавляют источник глюкозы для поощрения роста данного гриба.

В некоторых воплощениях источник глюкозы выбран из одного или более чем одного из мелассы, коричневого сахара и сиропа. В некоторых воплощениях глюкозу

включают в количестве по меньшей мере 2% от общего объема данного сосуда. В некоторых воплощениях глюкозу включают в количестве по меньшей мере 3% или по меньшей мере 4%. В некоторых воплощениях глюкозу включают в количестве меньше, чем 7% от общего объема данного сосуда. В некоторых воплощениях содержание глюкозы составляет от 2 до 7% от общего объема. В некоторых воплощениях содержание глюкозы составляет от 4 до 6% от общего объема.

В 113 данный сосуд запечатывают. В некоторых воплощениях данный сосуд представляет собой мешок для грибов. Данный мешок для грибов инокулируют грибом через клапан, который затем запечатывают для ростового процесса.

В 114 грибной смеси *B. bassiana* дают расти в данном запечатанном сосуде при контролируемой температуре. В некоторых воплощениях гриб *B. bassiana* выращивают в сосуде при температуре в пределах интервала от примерно 60 до примерно 90°F (от примерно 15,6 до примерно 32,2°C). В некоторых воплощениях температура находится в пределах интервала от примерно 70 до примерно 80°F (от примерно 21,1 до примерно 26,7°C). В некоторых воплощениях температура для роста составляет примерно 78°F (25,6°C).

В некоторых воплощениях грибной смеси дают расти в течение по меньшей мере примерно 10 суток. В некоторых воплощениях грибной смеси дают расти в течение по меньшей мере примерно 14 суток. В некоторых воплощениях грибной смеси дают расти в течение по меньшей мере примерно 20 суток. В некоторых воплощениях грибной смеси дают расти в течение примерно 30 суток или меньше. В некоторых воплощениях грибной смеси дают расти в течение от примерно 14 до примерно 21 суток. В некоторых воплощениях грибной смеси дают расти в течение от примерно 20 до примерно 30 суток. В некоторых воплощениях грибной смеси дают расти в течение от примерно 18 до примерно 24 суток.

В 120 запечатанный сосуд, содержащий грибную смесь, замораживают при второй температуре и хранят в течение второго периода времени. В некоторых воплощениях грибную смесь можно замораживать и хранить в течение вплоть до пяти лет. В воплощениях, где гриб выращивают в мешке, мешок можно сворачивать и помещать в холодильник для хранения. Данную грибную смесь также можно транспортировать в замороженном состоянии. В некоторых воплощениях грибную смесь замораживают до температуры ниже примерно 0°F (-17,8°C). В некоторых воплощениях грибную смесь замораживают до температуры ниже примерно -5°F (-20,6°C). В

некоторых воплощениях грибную смесь замораживают до температуры ниже примерно -10°F ($-23,3^{\circ}\text{C}$). В некоторых воплощениях грибную смесь замораживают до температуры от примерно -20 до примерно 0°F (от примерно $-28,9$ до примерно $-17,8^{\circ}\text{C}$). В некоторых воплощениях грибную смесь замораживают до температуры от примерно -15 до примерно -10°F (от примерно $-26,1$ до примерно $-12,2^{\circ}\text{C}$). В некоторых воплощениях грибную смесь замораживают до температуры примерно -12°F ($-24,4^{\circ}\text{C}$).

Как только замороженная грибная смесь прибывает по месту назначения, ее обрабатывают с получением грибной жидкости в 130. Операция 130 может дополнительно включать операции 131 и 132. В 131 замороженную и сохраненную грибную смесь оттаивают и промывают жидкостью на водной основе, и гриб отмывают из грибной смеси для получения грибной жидкости. Образующуюся грибную жидкость, содержащую гриб, переносят в новый контейнер в 132 и хранят в нем. В некоторых воплощениях некоторое количество данной смеси возвращают в исходный сосуд для инокуляции новой партии грибной смеси. В некоторых воплощениях контейнер вмещает по меньшей мере примерно 5 галлонов (22,7 литров). В некоторых воплощениях новый контейнер вмещает по меньшей мере примерно 20 галлонов (90,8 литров). В некоторых воплощениях новый контейнер вмещает по меньшей мере примерно 50 галлонов (227 литров). В некоторых воплощениях новый контейнер вмещает объем от примерно 5 до примерно 55 галлонов (от примерно 22,7 до примерно 249,7 литров).

В некоторых воплощениях жидкость на водной основе, используемая для промывки злакового зерна, содержит минимальное количество хлора. Содержание хлора может быть полезным для минимизации примесей в данной смеси. В некоторых воплощениях данную смесь фильтруют по мере ее переноса в новый контейнер.

Как только грибную жидкость переносят в новый контейнер, ее можно дополнительно обрабатывать и/или готовить в 140 с получением микоинсектицидной композиции. Операция 140 может дополнительно включать по меньшей мере одну из операций 141, 142, 143 или их комбинации. В 141 грибную жидкость в контейнере продувают газом, таким как окружающий воздух, и перемешивают в процессе, именуемом гидратация. Продувание обеспечивает грибную жидкость кислородом. В 142 в жидкую композицию с грибом добавляют смесь удобрения. В некоторых воплощениях данная смесь удобрения включает диатомовую землю. В некоторых воплощениях композиция не содержит или по существу не содержит поверхностно-активные вещества. В 143 содержание глюкозы грибной жидкости повышают добавлением

большого количества источника глюкозы, такого как меласса, в грибную жидкость. В некоторых воплощениях содержание глюкозы грибной жидкости повышают до от примерно 6 до примерно 8%. В некоторых воплощениях содержание глюкозы грибной жидкости повышают до примерно 7%. В 140 в грибную жидкость можно добавлять другие добавки и функциональные ингредиенты, обычные для производства инсектицидов. В некоторых воплощениях данная микоинсектицидная композиция не содержит или по существу не содержит синтетического биоцида.

В некоторых воплощениях процесс гидратации в 141 занимает по меньшей мере примерно две недели. В некоторых воплощениях процесс гидратации занимает по меньшей мере примерно три недели. В некоторых воплощениях процесс гидратации занимает от примерно 15 до примерно 30 суток.

Полученную композицию микоинсектицида можно упаковывать в операции 150. В одном воплощении композицию микоинсектицида переносят в аппликаторное устройство.

Полученную композицию микоинсектицида можно наносить на область, подлежащую обработке. В некоторых воплощениях часть микоинсектицидной композиции может оставаться в контейнере и продолжает расти в «процессе повторного роста». В некоторых воплощениях данный процесс повторного роста можно повторять вплоть до пяти раз. В некоторых воплощениях данный процесс повторного роста повторяют от трех до четырех раз.

Способ нанесения

В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к способу контроля насекомых, включающему нанесение описанной здесь микоинсектицидной композиции на область, подлежащую обработке.

Жидкие микоинсектицидные композиции по настоящему изобретению можно наносить разными способами с использованием разных типов аппликаторных устройств. Они могут включать, среди прочих: 1) небольшие нанесения с использованием ранцевых опрыскивателей, 2) большее оборудование для механического опрыскивания, 3) оборудование для опрыскивания с большой емкостью, 4) нанесение трактором высокой грузоподъемности, 5) нанесение с использованием дрона, 6) нанесение с использованием вертолета и 7) нанесение с использованием самолета-танкера. В некоторых воплощениях данное аппликаторное устройство выбрано из ранцевого опрыскивателя, точечного опрыскивателя, ATV опрыскивателя, UTV опрыскивателя, буксируемого

опрыскивателя, кузовного опрыскивателя, 3-точечного навесного опрыскивателя, штангового опрыскивателя и туманообразующего опрыскивателя. В некоторых воплощениях данное аппликаторное устройство присоединяется к по меньшей мере одному из самолета, реактивного самолета, вертолета и беспилотного летательного аппарата.

В некоторых воплощениях способ получения настоящей микоинсектицидной композиции и нанесения данной микоинсектицидной композиции осуществляется обученным индивидом. В некоторых воплощениях каждой партией данной жидкой композиции можно обрабатывать по меньшей мере один акр (0,405 га) земли. В некоторых воплощениях данную жидкую композицию можно наносить на тысячи акров (га) за раз для борьбы с широко распространившимися поражениями.

На ФИГ. 2 проиллюстрирована блок-схема одного конкретного типичного способа 200 контроля насекомых. В проиллюстрированном примере способ 200 включает операции 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211 и 212. В 201 примерно 2,5 фунта (1,13 кг) злакового зерна, содержащего рис и ячмень, смешивают с водой в мешке для грибов с обеспечением замачивания водой злакового зерна в течение от примерно 2 до примерно 4 часов. В 202 в данный сосуд добавляют гриб *B. bassiana* штамма JTDR-L-RC5A-HSSE, депонированный под номером 67768 NRRL, и мелассу с получением грибной смеси. Количество мелассы корректируется таким образом, что данная грибную смесь имеет содержание глюкозы примерно 5%. В 203 мешок для грибов запечатывают. В 204 запечатанный мешок для грибов хранят при температуре примерно 78°F (25,6°C) в течение от примерно 14 до примерно 21 суток для обеспечения роста гриба. В 205 мешок для грибов сворачивают и хранят при температуре примерно -12°F (-24,4°C) в течение периода времени вплоть до примерно 5 лет. В 206 грибную смесь оттаивают и промывают жидкостью на водной основе, содержащей хлор, с получением грибной жидкости. В 207 данную грибную жидкость фильтруют и хранят в контейнере. В 208 в грибную жидкость добавляют дополнительную мелассу для корректировки содержания глюкозы данной грибной жидкости до примерно 7%. В 209 в грибную жидкость добавляют удобрение. В 210 грибную жидкость продувают и перемешивают в течение от примерно 20 до примерно 30 суток при температуре примерно 78°F (25,6°C) с получением микоинсектицидной композиции. В 211 данную композицию микоинсектицида переносят из контейнера в аппликаторное устройство. В 212 данную композицию микоинсектицида распыляют над областью, подлежащей обработке, где

данная область, подлежащая обработке, включает растения, поврежденные насекомыми или чувствительные к повреждению насекомыми.

Термин «весовой процент», «% масс.», «процент по массе», «% по массе» и их вариации относятся к концентрации вещества в виде массы данного вещества, поделенной на общую массу композиции и умноженной на 100. Понятно то, что подразумевается, что «процент», «%» и тому подобное в том виде, как они здесь используются, являются синонимичными «весовому проценту», «% масс.» и т.д.

Термин «примерно» используется в сочетании с числовыми значениями с включением нормального варьирования в измерениях, как ожидается специалистами в данной области, и понятно, что он имеет такое же значение, как «приблизительно» и охватывает типичную допустимую погрешность, такую как плюс/минус 15%, плюс/минус 10%, плюс/минус 5%, плюс/минус 1%, плюс/минус 0,5% или даже плюс/минус 0,1% от заявленного значения. Термин «примерно» также охватывает количества, которые отличаются из-за разных равновесных условий для композиции, образующейся из конкретной исходной композиции. Независимо от того, модифицированы они или нет термином «примерно» формула изобретения включает эквиваленты данных количеств.

Следует отметить то, что формы единственного числа в том виде, в котором они используются в данном описании изобретения и приложенной формуле изобретения, включают ссылки на множественное число, если содержание явно не диктует иное. Таким образом, например, ссылка на композицию, содержащую «соединение», включает наличие двух или более чем двух соединений, которые либо являются одинаковыми, либо отличными друг от друга. Также следует отметить то, что термин «или» обычно применяется в его смысле, включающем «и/или», если контекст явно не диктует иное. Термин «и/или» в том виде, как он здесь используется, относится к и охватывает любые и все возможные комбинации одного или более чем одного из ассоциированных перечисленных предметов, а также отсутствие комбинаций при интерпретации в альтернативе («или»).

В интересах краткости и сжатости в любых интервалах значений, изложенных в данном описании изобретения, рассматриваются все значения в пределах данного интервала, и их следует истолковывать как поддержку пунктов формулы изобретения, в которых перечисляются любые подинтервалы, имеющие конечные точки, которые являются реальными числовыми значениями в пределах точно определенного

рассматриваемого интервала. Посредством гипотетического иллюстративного примера раскрытие в данном описании изобретения интервала от 1 до 5 следует рассматривать как поддерживающее заявку любого из следующих интервалов: 1-5; 1-4; 1-3; 1-2; 2-5; 2-4; 2-3; 3-5; 3-4 и 4-5.

Термин «по существу» используется в данном документе для представления присущей степени неопределенности, которая может быть приписана любому количественному сравнению, значению, измерению или другому представлению. Термин «по существу» также используется здесь для представления степени, посредством которой количественное представление может отличаться от заявленной ссылки, не приводя к изменению базовой функции рассматриваемого объекта изобретения.

Термин «по существу не содержит» может относиться к любому компоненту, который отсутствует или главным образом отсутствует в композиции по данному раскрытию. При ссылке на «по существу не содержит» подразумевается то, что данный компонент преднамеренно не добавляют в композиции по данному раскрытию. Применение термина «по существу не содержит» компонента допускает включение следовых количеств данного компонента в композиции по раскрытию, так как они присутствуют в другом компоненте. Однако признают то, что лишь следовые или незначительные количества компонента будут допустимыми, когда говорится, что композиция «по существу не содержит» данного компонента. Кроме того, если говорится, что композиция «по существу не содержит» компонента, если данный компонент присутствует в следовых или незначительных количествах, понятно то, что он не будет влиять на эффективность данной композиции. Понятно, что если ингредиент прямо не включен сюда, или его возможное включение не заявлено здесь, раскрытая композиция может по существу не содержать данный ингредиент. Подобным образом, прямое включение ингредиента допускает его прямое исключение, обеспечивая, посредством этого, то, что композиция по существу не содержит данный прямо заявленный ингредиент.

Термин «содержать», «содержит» и «содержащий» в том виде, как он здесь используется, точно определяет присутствие заявленных характеристик, целых чисел, стадий, операций, элементов и/или компонентов, но не исключает присутствия или добавления одной или более чем одной другой характеристики, целого числа, стадии, операции, элемента, компонента и/или их групп.

Хотя данное раскрытие и было здесь описано с использованием типичных методик, компонентов и/или способов для реализации систем и способов по настоящему раскрытию, специалистам в данной области следует понимать то, что можно использовать или осуществлять другие описанные здесь методики, компоненты и/или способы, или другие комбинации и последовательности данных методик, компонентов и/или способов, которые достигают тех же самых описанных там функций и/или результатов, и которые включаются в пределы объема настоящего раскрытия.

Разные описанные выше примеры и идеи приводятся лишь посредством иллюстрации, и их не следует истолковывать как ограничивающие объем настоящего раскрытия. Специалисты в данной области легко узнают разные модификации и изменения, которые можно делать, не следуя проиллюстрированным и описанным здесь примерам и применениям, и не отступая от истинной сущности и объема настоящего раскрытия.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ контроля насекомых, включающий:

добавление воды к примерно 2,5 фунтам (1,13 кг) риса с ячменем в мешке для грибов и обеспечение замачивания водой данного риса и ячменя в течение от примерно 2 до примерно 4 часов;

добавление гриба *Beauveria bassiana* штамма JTDRL-RC5A-HSSE, депонированного под номером 67768 NRRL, и мелассы с получением грибной смеси, имеющей содержание глюкозы примерно 5%;

запечатывание мешка для грибов;

обеспечение роста грибной смеси в мешке для грибов в течение от примерно 14 до примерно 21 суток при температуре примерно 78 °F (25,6°C);

сворачивание данного мешка для грибов и хранение при температуре примерно -12 °F (-24,4°C) в течение вплоть до примерно 5 лет;

оттаивание и промывка грибной смеси водой, содержащей хлор, с получением грибной жидкости;

фильтрование грибной жидкости и хранение грибной жидкости в контейнере;

добавление дополнительной мелассы в грибную жидкость для доведения общего содержания глюкозы до примерно 7%;

добавление удобрения в грибную жидкость;

продувание и перемешивание грибной жидкости в контейнере в течение от примерно 20 до примерно 30 суток при температуре примерно 78°F (25,6°C) с получением микоинсектицидной композиции;

перенос микоинсектицидной композиции в аппликаторное устройство;

разбрызгивание микоинсектицидной композиции аппликаторным устройством над областью, подлежащей обработке,

где область, подлежащая обработке, включает растения, подверженные повреждению насекомыми.

2. Способ по п. 1, где аппликаторное устройство выбрано из по меньшей мере одного из ранцевого опрыскивателя, точечного опрыскивателя, ATV опрыскивателя, UTV опрыскивателя, буксируемого опрыскивателя, кузовного опрыскивателя, 3-точечный навесной опрыскиватель, штангового опрыскивателя и туманообразующего опрыскивателя.

3. Способ по любому из пп. 1-2, где аппликаторное устройство присоединено к по меньшей мере одному из самолета, реактивного самолета, вертолета и беспилотного летательного аппарата.

4. Способ по любому из пп. 1-3, где растения включают один или более чем один вид кустарников и деревьев.

5. Способ по любому из пп. 1-4, где насекомые представляют собой насекомых-точильщиков.

6. Микоинсектицид, содержащий гриб *Beauveria bassiana* штамма JTDRL-RC5A-HSSE, депонированного под номером 67768 NRRL.

7. Микоинсектицидная композиция, полученная посредством стадий по п. 1.

8. Способ получения микоинсектицидной композиции, включающий следующее: получение заквасочной культуры для роста штамма гриба *B. bassiana*; замораживание и хранение полученной заквасочной культуры с получением грибной смеси;

обработка сохраненной грибной смеси с получением грибной жидкости, содержащей выращенный гриб *B. bassiana*;

обработка и/или приготовление грибной жидкости с получением микоинсектицидной композиции; и

упаковка микоинсектицидной композиции.

9. Способ по п. 8, где получение заквасочной культуры дополнительно включает: добавление воды к злаковому зерну в сосуде и обеспечение замачивания водой данного злакового зерна;

добавление гриба *B. bassiana* и источника глюкозы с получением грибной смеси, имеющей содержание глюкозы от примерно 4 до примерно 6% на основе общей массы данной грибной смеси; и

обеспечение роста грибной смеси в сосуде в течение от примерно 10 до примерно 30 суток при температуре от примерно 70°F (21,1°C) до примерно 80°F (26,7°C).

10. Способ по любому из пп. 8-9, где грибную смесь замораживают и хранят при температуре от примерно -22 до примерно 0°F (от примерно до примерно -17,8°C).

11. Способ по любому из пп. 8-10, где обработка сохраненной грибной смеси дополнительно включает:

оттаивание и промывку грибной смеси жидкостью на водной основе с получением грибной жидкости; и

фильтрацию грибной жидкости и хранение грибной жидкости в контейнере.

12. Способ по любому из пп. 8-11, где обработка и/или приготовление грибной жидкости дополнительно включает следующее:

добавление источника глюкозы для повышения общего содержания глюкозы грибной жидкости до от примерно 6 до примерно 8% на основе общей массы грибной жидкости;

добавление удобрения в грибную жидкость; и

продувание и перемешивание грибной жидкости в контейнере в течение от примерно 10 до примерно 60 суток.

13. Способ по любому из пп. 8-12, где источником глюкозы является меласса.

14. Способ по любому из пп. 8-13, где гриб *B. bassiana* принадлежит к штамму JTDRL-RC5A-HSSE, депонированному под номером 67768 NRRL.

15. Способ по любому из пп. 8-14, где злаковое зерно содержит рис и ячмень.

16. Способ получения микоинсектицидной композиции, включающий:

добавление воды к злаковому зерну, содержащему рис и ячмень, в сосуде и обеспечение замачивания данного злакового зерна водой;

добавление гриба *B. bassiana* и источника глюкозы с получением грибной смеси, имеющей содержание глюкозы от 4 до 6% на основе общей массы грибной смеси;

обеспечение роста грибной смеси в сосуде в течение от 10 до 30 суток при температуре от 70 до 80°F (от 21,1 до 26,7°C);

замораживание грибной смеси при температуре от -22 до 0°F (-30 до -17,8°C);

оттаивание и промывка грибной смеси водой;

фильтрация полученной грибной жидкости и хранение данной грибной жидкости в контейнере;

добавление мелассы для повышения общего содержания глюкозы до 6-8%;

добавление удобрения в грибную жидкость; и

продувание и перемешивание грибной жидкости в контейнере в течение 10-60 суток.

17. Способ по п. 16, где гриб *B. bassiana* принадлежит к штамму JTDRL-RC5A-HSSE, депонированному под номером 67768 NRRL.

18. Способ обработки растений для предупреждения повреждения насекомыми, включающий:

получение микоинсектицидной композиции по любому из пп. 8-17; и нанесение данной микоинсектицидной композиции на растения посредством опрыскивания.

19. Способ по п. 18, где растения представляют собой деревья.

20. Способ по п. 18, где растения представляют собой кустарники.

21. Способ по п. 19, где деревья представляют собой сосны.

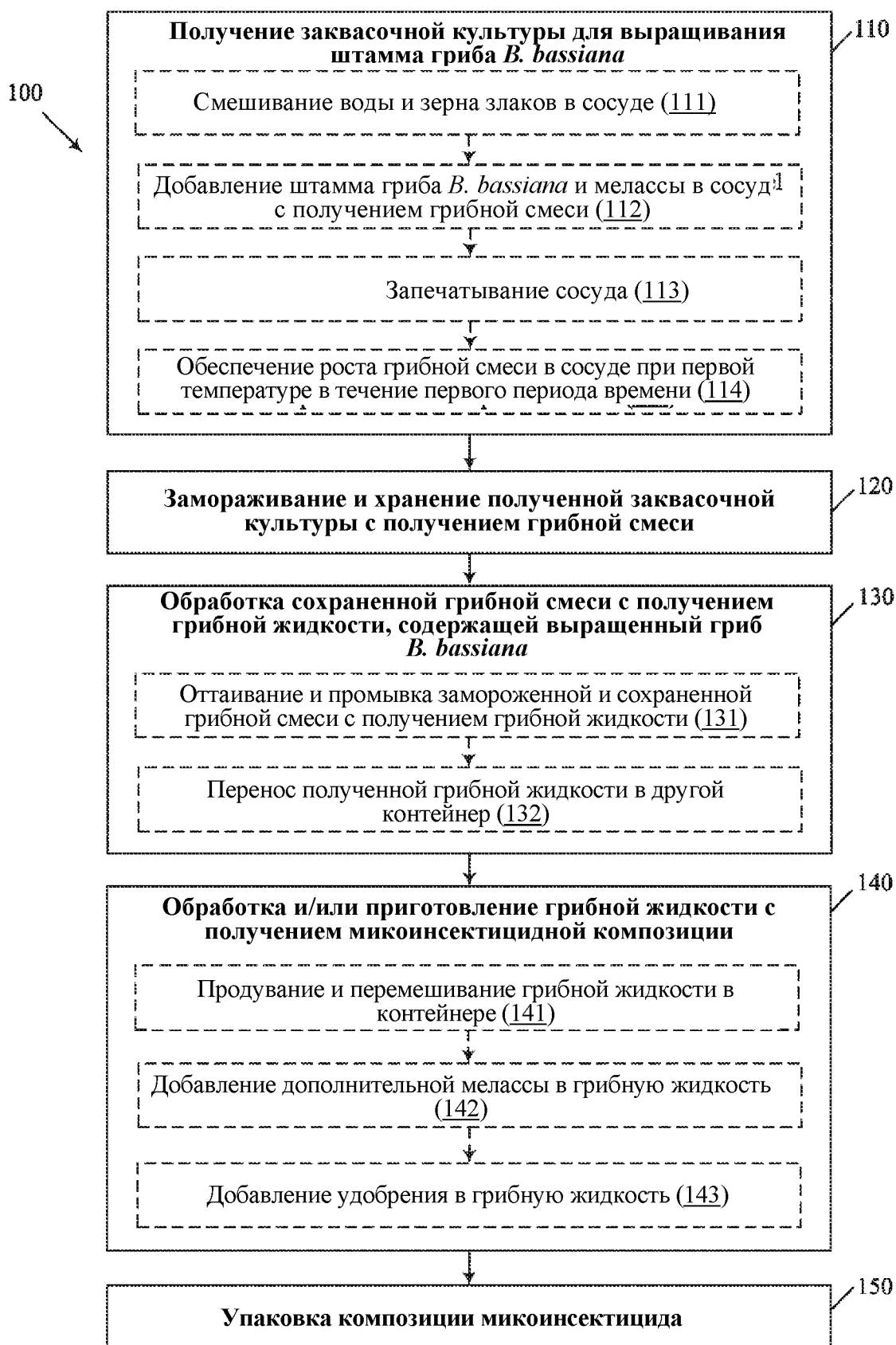
22. Способ по п. 20, где кустарники представляют собой растения кофе.

23. Способ по любому из пп. 18-22, где насекомые представляют собой жуков-точильщиков.

24. Способ по п. 23, где жуки-точильщики представляют собой кофейных жуков-точильщиков.

25. Способ по п. 23, где жуки-точильщики представляют собой сосновых жуков-точильщиков.

26. Способ по любому из пп. 18-22, где насекомые представляют собой долгоносиков.



ФИГ. 1



ФИГ. 2