ROYAUME DU MAROC

OFFICE MAROCAIN DE LA PROPRIETE INDUSTRIELLE ET COMMERCIALE
---

(19)

المملكة المغربية

المكتب المغربي للملكية الصناعية و التجارية
---

(12) FASCICULE DE BREVET

(11) N° de publication :
MA 35135 B1

(43) Date de publication :
02.05.2014

(51) Cl. internationale :
A01N 25/04; A01N 63/00; A01P 7/00; C12N 1/04

(21) N° Dépôt :
36464

(22) Date de Dépôt :
25.11.2013

(30) Données de Priorité :
27.05.2011 DE 10 2011 102 632.4

(86) Données relatives à l'entrée en phase nationale selon le PCT :
PCT/DE2012/000523 18.05.2012

(71) Demandeur(s) :
BAYER CROPSCIENCE BIOLOGICS GMBH, Inselstrasse 12 23999 Malchow/Poel (DE)

(72) Inventeur(s) :
LÜTH, Peter

(74) Mandataire :
CABINET GHARS

(54) Titre : **PRÉPARATION LIQUIDE POUR LA PROTECTION BIOLOGIQUE DES VÉGÉTAUX, SON PROCÉDÉ DE PRODUCTION ET SON UTILISATION**

(57) Abrégé : L'invention concerne une préparation liquide comprenant des champignons et/ou des organes de champignons et/ou d'autres micro-organismes biologiquement actifs, dans une suspension; un procédé pour sa production et son utilisation pour la protection biologique des végétaux, pour le renforcement biologique des végétaux, ou pour l'amélioration biologique du sol. Du trisiloxane à polyéther modifié est utilisé de préférence comme liquide. La préparation selon l'invention est caractérisée par un stockage facilement manipulable à température ambiante, un transport sans problème, une production et une application simples.

مستحضر سائل لحماية النبات حيويا، طريقة لإنتاجه واستخدامه

الملخص

يتعلق الاختراع بمستحضر سائل (liquid preparation) يشمل فطر نشط بيولوجيا و/أو أعضاء فطرية و/أو كائنات متعضية مجهرية (microorganisms) في معلق، بطريقة لإنتاجه وباستخدامه لحماية النباتات بيولوجيا، لتقوية النبات بيولوجيا، أو لتحسين التربة بيولوجيا. يكون trisiloxane يعدل polyether عبارة عن سائل مفضل مستخدم. يكون المستحضر طبقا للاختراع ملحوظا لسهولة تخزينه الطيع عند درجة حرارة الغرفة، نقله الخالي من المشاكل، وبساطة إنتاجه وتطبيقه.

35135

02 MAI 2014

بسم الله الرحمن الرحيم

مستحضر سائل لحماية النبات حيويا، طريقة لإنتاجه واستخدامه

الوصف التفصيلي

المجال التقني

يتعلق الاختراع بمستحضر سائل (liquid preparation)، بطرق لإنتاجه واستخدامه. إن مجال التطبيق هو الزراعة وزراعة الغابات، متضمنة البستنة وزراعة الفاكهة وأيضا زراعة نباتات الزينة، وإنشاء والحفاظ على المروج الخضراء. بهذا الخصوص، يكون هدف الاختراع هو، تحديدا، حماية النبات بيولوجيا، تقوية النبات بيولوجيا وتحسين التربة بيولوجيا.

الخلفية التقنية

إن استخدام المستحضرات اعتمادا على أساس الفطر المجهري أو كائنات متعضية مجهرية أخرى تسمح بحماية النبات بيولوجيا وبالتالي التحكم الوقائي أو العلاجي للكائنات المتعضية المسببة لمرض النبات والكائنات المتعضية الضارة على أساس آليات بيئية للتأثير الموجه ضد الكائنات المتعضية المسببة للمرض والضارة المذكورة.

إن الكائنات المتعضية المجهرية الأخرى، مثل *Trichoderma* spp.، *Pythium oligandrum*، *Bacillus* spp.، *Pseudomonas* spp. و*Streptomyces* spp.، تكون قادرة على إحداث تفاعلات في النباتات مما يؤدي إلى زيادة المقاومة ضد الكائنات المتعضية المسببة للمرض أو عوامل إجهاد أخرى، مثل الجفاف، الإمداد الفقير للعناصر الغذائية، مستويات الأس الهيدروجيني غير المفضلة أو محتوى ملح عالي في التربة.

إن الكائنات المتعضية المجهرية الإضافية أيضا، مثل *Trichoderma* spp.، *Penicillium bilaii*، *Azotobacter* spp.، *Azotomonas* spp.، *Azospirillum* spp. و*Rhizobium* spp.، تؤدي إلى تحسين توافر المادة المغذية في التربة أو مباشرة عند جذر النبات.

تكون هذه المستحضرات صديقة للبيئة وتستعين بالآليات التنظيمية الطبيعية التي تم تطويرها في الطبيعة خلال فترة النمو.

تكشف الأدبيات عن صياغات ومستحضرات متنوعة تشكل فيها الكائنات المتعضية المجهرية الفطرية عوامل في عوامل حماية النبات بيولوجيا، عوامل تقوية النبات بيولوجيا وأسمدة بيولوجية. على سبيل المثال، تصاغ الكائنات المتعضية المجهرية، على سبيل المثال،

كحبيبات قابلة للتشتت في الماء (water-dispersible granules) (WG)، مساحيق قابلة للتشتت في الماء (water-dispersible powders) (WP)، تشتيتات زيتية (oil dispersions) (OD) أو مواد مركزة من المعلق (suspension concentrates) (SC) (Anonymous، 2005).

إن الصياغة يجب أن تضمن أن يكون للمنتجات عمر جيد للتخزين على الرف. إن هذا يعني أن الكائنات المتعضية المجهرية يجب أن تكون قادرة على الاحتفاظ بحيويتها لأطول فترة ممكنة حتى عند درجات حرارة عالية.

يجب أن يكون للمنتجات قابلية للذوبان/ قابلية للتشتت في الماء جيدة، لذلك يمكن استخدامها بواسطة التطبيق بالرش أو بمساعدة نظام الري ويمكن توزيع الكائنات المتعضية المجهرية (مثلا، جراثيم فطرية أو خلايا بكتيرية) جيدا في التربة، على النبات أو على الكائن المتعضي الضار. بهذا الخصوص، يكون من الهام تحديدا أن لا تكون الكائنات المتعضية المجهرية متكتلة معا في مجموعات في المعلق المائي لتستخدم، لكن بدلا من ذلك توجد منفردة (مثلا، جراثيم فطرية أو خلايا بكتيرية تسبح منفصلة عن بعضها البعض في معلق). إذا وجدت مجموعات في المعلق المائي المراد استخدامه، فإن هذا قد يؤدي إلى سد فوهات رشاشة حماية النبات أو يكون توزيع المادة البيولوجية النشطة في التربة، على النبات أو على الكائن المتعضي الضار بصورة غير متجانسة، يؤثر سلبا على عمل المنتج.

إن الكائنات المتعضية المجهرية المحددة التي تحتاج إلى التزود بالماء في التربة للتطور الكامل لعملها (مثلا، للتحكم في الديدان الخيطية، حشرات التربة أو الكائنات المتعضية التي تسبب المرض الموجودة في التربة) تفقد تأثيرها، بما أنها تزال بالترشيح سابقا في طبقات التربة الأعلى بواسطة بناء التربة إذا وجدت مجموعات كبيرة نسبيا في المعلق المستخدم.

إن الكائنات المتعضية المجهرية أو أعضاء من الكائنات المتعضية المجهرية، تكون بتحديد أكثر غبيرات فطرية من النوع *Beauveria*، *Isaria*، *Nomuraea*، *Metarhizium*، *Paecilomyces* و *Penicillium*، تكون كارهة للماء. في بعض الحالات، فإن هذه الخاصية المتعلقة بالكائنات المتعضية المجهرية تعيق إضافيا استخدامها. يمكن أن تعلق بصورة ضعيفة في الماء، يكون توزيعها سيء على سطح النباتات أو الحشرات الضارة، وتزود بالماء في التربة بصعوبة.

إن عيب بعض المساحيق القابلة للتشتت في الماء يتمثل في أنه لا يمكن إلا بصعوبة منع تدفق الأتربة أثناء استخدامها، وأيضا يمكن أن يحدث تلوث للمستخدم أو البيئة.

بسبب صياغتها، يحتوي العديد من المستحضرات البيولوجية المجهرية فقط على كمية صغيرة من العامل النشط الخاص بها. على سبيل المثال، هناك مستحضرات تحتوي فقط على 1×10^{7} أو 1×10^{8} غبيرات فطرية حية لكل جرام. في حالة كمية التطبيق الدنيا المطلوبة للتأثير بصورة جيدة والتي تكون في العديد من الحالات 1×10^{11} أو 1×10^{12} والمزيد من الغبيرات الفطرية لكل هكتار، فإن تركيز المادة النشطة الصغيرة في المستحضرات يجعل التكاليف عالية (تكاليف تتعلق بالتصنيع، التخزين، النقل والاستخدام).

إن الكائنات المتعضية المجهرية الحية تختلف عن المواد النشطة المصنعة كيميائيا فيما يخص، من بين أمور أخرى، عمرها على الرف، بما أنها تكون غير مستقرة في المذيبات التقليدية المستخدمة. إذا تعرضت إلى شروط غير مفضلة، فإنها تفقد قدرتها على الإنبات وتموت. إن هذا يحدث عند التخزين لفترة طويلة، أثناء الحضانة تحت درجات حرارة عالية نسبيا، عند التلامس مع مواد كيميائية، إلخ.

الكشف عن الاختراع

لذلك يكون غرض الاختراع تطوير مستحضر سائل يحتوي على كائن متعضي مجهري نشط أو أعضاؤه، على سبيل المثال الجراثيم الفطرية، الغبيرات الفطرية، الجراثيم الكلاميدية، الفطريات المتصلبة، قطع من الخيوط الفطرية، خلايا بكتيرية أو فيروسات. يجب أن تكون قابلة للتخزين لفترة طويلة (على الأقل 12 شهر) مع جهد تقني قليل ومع الحفاظ على حيويتها وعدائيتها عند درجة حرارة عالية نسبيا. بالإضافة لذلك، يجب أن تكون قابلة للتعليق بسهولة في الماء وقابلة للتوزيع بسهولة على النبات، الكائن المتعضي المستهدف أو في التربة. يجب أن يكون أيضا المستحضر السائل عالي التركيز.

يتم إدراك الاختراع طبقا لعناصر الحماية 1، 11 و15. يتم شرح تصميمات، جوانب وتفاصيل مميزة إضافيا للاختراع بواسطة عناصر الحماية، الوصف والأمثلة الملحقة.

إن نقطة بدء الاختراع هي الاكتشاف المدهش المتمثل في أن خلط الكائنات المتعضية المجهرية أو أعضاء منها في trisiloxane معدل مع polyether ينتج هذا المستحضر السائل. لقد تم إضافيا اكتشاف أن، على نحو مدهش، الكائنات المتعضية المجهرية الحية المخلوطة في، أي، المعلقة في، trisiloxane معدل مع polyether تحتفظ بحيويتها. لقد تم إضافيا اكتشاف على نحو مثير للدهشة تحديدا أن الكائنات المتعضية المجهرية الحية المعلقة تحتفظ بحيويتها خلال التخزين لمدة 12 شهر. إن من المثير للدهشة على نحو استثنائي أيضا حقيقة

أن الجراثيم الفطرية يمكن أن تعلق في trisiloxane معدل مع polyether بقوة 100٪ بدون الموت نتيجة لذلك. إن المثير للدهشة أكثر أيضا هو حقيقة أن عمر تخزين الجراثيم يتحسن في الواقع خلال المعلق في trisiloxane معدل مع polyether.

إن المعلق من الكائنات المتعضية المجهرية أو أعضاء منها في trisiloxane معدل مع polyether ينتج مادة مركزة للتشتيت (DC). فيما يخص هذا، يتميز المستحضر السائل طبقا للاختراع بمعلق يتكون من كائن متعضي مجهري نشط بيولوجيا أو أعضاء من كائن متعضي مجهري، على سبيل المثال جراثيم فطرية، غبيرات فطرية، جراثيم كلاميدية، فطريات متصلبة، قطع من الخيوط الفطرية، خلايا بكتيرية أو فيروسات، وtrisiloxane معدل مع polyether.

يكون الاختراع مفيد لأن عمر تخزين عامل حماية النبات بيولوجيا يتحسن بشكل حاسم عن منتجات الفن السابق. يكون الاختراع مفيد أيضا لأن الكائنات المتعضية المجهرية الكارهة للماء أو أجزاء منها يمكن أن تعلق جوهريا بصورة فعالة أكثر في trisiloxane معدل مع polyether نقي عن الماء، وأيضا، على النقيض من المحاليل المائية، لا يحدث تكتل للكائنات المتعضية المجهرية. إذا تم انحلال/ تعليق المنتج في الماء للاستخدام، تظل هذه الخواص محفوظة، وأيضا يمكن أن تتوزع الكائنات المتعضية المجهرية أو أعضاء من الكائنات المتعضية المجهرية بصورة منتظمة على النباتات أو في التربة. إن الميزة الإضافية للاختراع هي أن الكائنات المتعضية المجهرية، أو أجزاء منها، المعلقة في trisiloxane معدل مع polyether نقي يمكن أن تخلط جيدا مع الماء وبالتالي يمكن الحصول على تركيزات استخدام متنوعة.

يعرف من الأدبيات أن، على سبيل المثال، الجراثيم الفطرية في المعلقات المائية تستخدم مع استخدام trisiloxane معدل مع polyether، كما هي متضمنة في منتجات Silwet أو Break-Thru على سبيل المثال

(Akbar et al., 2005; Gatarayiha et al., 2010; Legaspi et al., 2000; Wekesa et al., 2005).

هنا، مع هذا، يخلط فقط trisiloxane معدل مع polyether في الماء أو معلق الغبيرات المائي قبل استخدام الغبيرات مباشرة لتحسين قابلية تطبيق الغبيرات. هكذا يعمل trisiloxane معدل مع polyether فقط كعامل ترطيب و/أو عامل لاصق. إن استخدام منشطات سطح غير أيونية يتم ذكره أيضا في DE102004011007، لكن فقط في سياق صياغة تعتمد على زيت وليس

كمنشطات سطح نقية. تستخدم trisiloxanes تعدل trisiloxanes في شكل منشطات سطح غير أيونية في عوامل حماية النبات، برغم تعليق المواد النشطة المصنعة كيميائيا (US6117816A ،DE10036003A1). مع هذا، يكون حتى الآن معروف أن الكائنات المتعضية المجهرية أو أعضائها يمكن صياغتها في trisiloxane معدل مع polyether نقي وتخزن في حالة حيوية خلال فترة طويلة. علاوة على ذلك، فإن عامل حماية النبات بيولوجيا المتكون من صياغة من الكائنات المتعضية المجهرية الحية كعامل نشط في trisiloxane معدل مع polyether نقي يكون غير معروف حتى الآن.

وسائل تنفيذ الاختراع

يوفر الاختراع تحديدا مستحضر سائل لحماية النبات بيولوجيا يشتمل على معلق يتكون من كائن متعضي مجهري نشط أو خليط من كائنات متعضية مجهرية نشطة متعددة أو أعضاء من كائنات متعضية مجهرية ومن trisiloxane معدل مع polyether.

فيما يتعلق بهذا، يكون من المفضل للكائن المتعضي المجهري النشط أو خليط من الكائنات المتعضية المجهرية النشطة أو أعضاء من الكائن (الكائنات) المتعضي المجهري النشط في المستحضر السائل طبقا للاختراع تأثير تعضدي و/أو طفيلي مفرط موجه ضد كائنات متعضية محددة تتسبب في مرض النبات. يكون من المفضل إضافيا للكائن المتعضي المجهري النشط أو خليط من الكائنات المتعضية المجهرية النشطة أو أعضاء من الكائن (الكائنات) المتعضي المجهري النشط في المستحضر السائل طبقا للاختراع تأثير يحث المقاومة و/أو تأثير يحث تحمل الإجهاد الذي يتضح بذاته على النباتات أو تأثير يزيد من توافر المادة المغذية.

طبقا للاختراع، تكون المواد البيولوجية المجهرية النشطة المفضلة في المستحضر السائل طبقا للاختراع تكون عبارة عن فطريات، فطريات متعددة أو خليط من أنواع فطرية متنوعة. إذا تم استخدام أعضاء من الفطريات، عندئذ طبقا للاختراع فإنها قد تكون بصورة مفضلة عبارة عن جراثيم، غبيرات، غبيرات برعمية، غبيرات كلاميدية، فطريات متصلبة أو قطع من خيوط فطرية أو خليط من الأعضاء المذكورة. فيما يتعلق بهذا، يفضل تحديدا استخدام الفطريات التالية التي يكون لها تأثير تعضدي ضد كائنات متعضية محددة تتسبب في مرض النبات:

Ampelomyces quisqualis

Beauveria bassiana

Beauveria brongniartii

Clonostachys rosea

Coniothyrium minitans

Gliocladium catenulatum

Isaria spp.

Laetisaria arvalis

Lecanicillium lecanii

Lecanicillium muscarium

Metarhizium anisopliae

Nomuraea rileyi

Paecilomyces lilacinus

Phoma macrostoma

Pythium oligandrum

Talaromyces flavus

Teratosperma oligocladum

Trichoderma spp.

Verticillium biguttatum

إن الفطريات المفضل استخدامها التي تحسن الوصول إلى المادة المغذية في التربة و/أو زيادة مقاومة النباتات لعوامل الإجهاد (متضمنة الكائنات المتعضية المسببة للمرض والضارة) هي:

Penicillium bilaii، *Trichoderma* spp. وكل الأنواع التي يمكن تصنيفها في مجموعة فطر mycorrhizal.

يفضل إضافيا طبقا للاختراع مستحضر سائل تكون فيه المادة البيولوجية المجهرية النشطة هي بكتير أو خليط من بكتيريا متنوعة. بهذا الخصوص، يفضل تحديدا استخدام البكتيريا التي تحسن من توافر المادة المغذية في التربة و/أو تزيد مقاومة النباتات لعوامل الإجهاد (متضمنة الكائنات المتعضية المسببة للمرض والضارة). يفضل استخدام البكتيريا التالية:

Azotobacter spp.، *Streptomyces* spp.، *Pseudomonas* spp.، *Bacillus* spp.، *Azotomonas* spp.، *Azospirillum* spp. و *Rhizobium* spp..

تتم مناقشة بكتيريا أخرى أو مستخدمة سابقا كعوامل نشطة في عوامل حماية النبات بيولوجيا. إن الأمثلة على هذا تتضمن: *Bacillus* spp.، *Serratia* spp.، *Pseudomonas* spp.، *Streptomyces* spp.، *Pasteuria* spp. و *Burkholderia* spp..

يفضل إضافيا طبقا للاختراع مستحضر سائل تكون فيه المادة البيولوجية المجهرية النشطة هي فيروس أو خليط من فيروسات متنوعة.

يفضل إضافيا طبقا للاختراع مستحضر سائل تكون فيه المادة البيولوجية المجهرية النشطة هي خليط من الفطريات، البكتيريا أو الفيروسات المذكورة مسبقا أو خليط من، في كل حالة، اثنين من هذه الكائنات المتعضية المجهرية.

ينتج المستحضر السائل طبقا للاختراع كما يلي:

يزرع الكائن المتعضي المجهري النشط بيولوجيا على وسط نمو مناسب لهذا الغرض طبقا للطرق المعروفة بذاتها، على سبيل المثال التخمر بالغمر أو تخمر حالة صلبة. بعد الزراعة، يفصل الكائن المتعضي المجهري أو أعضاؤه المستخدمة بصورة مفضلة من الطبقة التحتية للمزرعة. في شكل متباين محدد، تجفف مسبقا الطبقة التحتية للمزرعة المغطاة بواسطة كائن متعضي مجهري (خاصة عند استخدام طبقات تحتية للمزرعة صلبة). بطريقة بديلة، يمكن أن يجفف الكائن المتعضي المجهري أو أعضاؤه المستخدمة بصورة مفضلة، على سبيل المثال بمساعدة التجفيف بالتجميد، بعد فصلهم من الطبقة التحتية للمزرعة. بعد الفصل والتجفيف الاختياري، يعلق الكائن المتعضي المجهري أو أعضاؤه المستخدمة بصورة مفضلة في trisiloxane معدل مع polyether. بصورة مفضلة يعدل trisiloxane مع

propylene glycol n-butyl ether (PnB), CAS No. 29387-86-8 (5131-66-8)

dipropylene glycol n-butyl ether (DPnB), CAS No. 29911-28-2 (35884-42-5)

dipropylene glycol methyl ether acetate (DPMA), CAS No. 88917-22-0

tripropylene glycol methyl ether (TPM), CAS No. 25498-49-1 & 20324-33-8

propylene glycol methyl ether (PM), CAS No. 107-98-2

propylene glycol methyl ether acetate (PMA), CAS No. 108-65-6

dipropylene glycol methyl ether (DPM), CAS No. 34590-94-8

tripropylene glycol monomethyl ether.

يفضل تحديدا trisiloxane Break-Thru معدل مع polyether، ويفضل بصفة محددة جدا trisiloxane S240 معدل مع polyether، CAS No. 134180-76-0، مع الاسم الكيميائي mono(3-(1,3,3,3-tetramethyl-1- ،oxirane مع ـــــــــــــــ polymer ،methyl- ،oxirane ((trimethylsilyl)oxy) disiloxanyl)propyl) ether.

قبل فصل الكائن المتعضي المجهري أو أعضاؤه المستخدمة بصورة مفضلة، تكون الزراعة اختياريا تليها معالجة الطبقة التحتية للزراعة المغطاة بواسطة طريقة تشتت ملائمة أو، بعد التجفيف، بواسطة طريقة طحن ملائمة. بعدئذ على التوالي يتحقق فصل الكائن المتعضي المجهري أو أعضاؤه المستخدمة بصورة مفضلة بواسطة طرق معروفة بذاتها، مثل طرق النخل، الترشيح، تصنيف الهواء، الصفق أو الطرد المركزي.

طبقا للاختراع، يستخدم المستحضر السائل كعامل حماية نبات بيولوجيا، عامل تقوية نبات بيولوجيا أو عامل تحسين التربة بيولوجيا، وعند الضرورة يخفف بالماء إلى التركيز المستخدم اعتمادا على الاستخدام المقصود. يمكن أن يخلط المستحضر أو يزود بالماء في التربة، يطبق مباشرة على النباتات، أو يستخدم لمعالجة البذور.

على سبيل المثال، يمكن استخدام المستحضر مع غبيرات من *Paecilomyces lilacinus* كعامل نشط للتحكم البيولوجي للديدان الخيطية الطفيلية في النبات. في حالة استخدام جراثيم من *Talaromyces flavus*، يمكن استخدام المستحضر للتحكم في *Verticillium dahliae*، كائن متعضي يسبب مرض الذي يحدث ذبول القطن. في حالة استخدام جراثيم *Nomuraea rileyi*، يمكن استخدام المستحضر للتحكم في اليرقانات من أنواع فراش ضار متنوعة، مثل *Helicoverpa armigera* و *Spodoptera exigua*. إن استخدام المستحضر مع استخدام غبيرات من *Penicillium bilaii* يزيد من توافر phosphorus المعدني في التربة.

يكون للمستحضر السائل طبقا للاختراع عمر تخزين طويل عند درجة حرارة الغرفة ويكون قابل للذوبان كليا في الماء، مع تعليق العامل الميكروبي النشط في ماء/ محلول trisiloxane معدل مع polyether.

على سبيل المثال، بعد تخزين المستحضر لمدة 12 شهر عند درجة حرارة الغرفة، لا يزال من الممكن تحديد حيوية بنسبة 92.3٪ لغبيرات *P. lilacinus*. إن تأثير المستحضر يكون

كافيا أيضا لخفض عدد الديدان الخيطية *Meloidogyne incognita* في التربة بوضوح. لهذا السبب، يكون المستحضر مناسب بدرجة عالية للاستخدام التجاري.

يخزن المستحضر وينقل في غياب الهواء في الزجاجات، الأكياس، العلب أو الأسطوانات التي تغلق بإحكام لعدم تسرب الهواء.

إن التطبيق يكون بسيط بسبب قابلية ذوبان المستحضر الجيدة في الماء وقابلية التعليق الجيدة المصاحبة للكائن المتعضي المجهري أو أعضاؤه المستخدمة بصورة مفضلة في سائل الرش ويمكن أن يجرى بواسطة طرق الرش أو بالحقن في نظام الري، ضامنا التوزيع المتماثل للعامل النشط في التربة، على النبات أو على الكائنات المتعضية الضارة المراد التحكم فيها.

باختصار، يتحدد أن المستحضر طبقا للاختراع يكون ملحوظا لسهولة تخزينه الطيع عند درجة حرارة الغرفة، نقله الخالي من المشاكل، بساطة تصنيعه واستخدامه.

طرق تطبيق الاختراع صناعيا

سوف يتم الآن شرح الاختراع بتحديد أكثر باستخدام التجسيدات التمثيلية، التي، مع هذا، لا تعتبر مقيدة للاختراع.

مثال 1

تزرع الفطريات *Paecilomyces lilacinus* على طبقة تحتية صلبة مناسبة تحت شروط ممحوضة (مزرعة غير ملوثة). بعد الزراعة، تجفف الطبقة التحتية للمزرعة مع غبيرات فطرية كائنة فيها.

بعدئذ تفصل الغبيرات من الطبقة التحتية للمزرعة الجافة بمساعدة طريقة تصنيف الهواء والترشيح. عندئذ، فإنها تحتوي على رطوبة متخلفة بنسبة 8.3٪. يعلق 80 جم من مسحوق الغبيرات المجففة، الذي له تركيز بمقدار 2.8×10^{11} غبيرات لكل جرام، في 100 ملليلتر من trisiloxane معدل مع polyether، Break-Thru S240 مستحضر تجاري. يحتوي المستحضر السائل الناتج على 1.41×10^{11} غبيرات لكل ملليلتر و 1.37×10^{11} غبيرات حية لكل ملليلتر. إن هذا يقابل تركيز الغبيرات الحية في المستحضر السائل بمقدار 97.24٪.

يحضن المستحضر السائل عند درجة حرارة الغرفة (20–22°مئوية)، وتتحدد قدرة إنبات غبيرات *Paecilomyces lilacinus* شهريا. لبحث القدرة الإنباتية، تؤخذ العينات بانتظام، تخلط مع ماء بنسبة 10000:1، تحضن لمدة 5 ساعات في هذا الخليط، وتنتشر في 0.1 ملليلتر على وسط نمو agar مناسب. تحضن أطباق agar بعدئذ عند 25°مئوية لمدة 24 ساعة ثم

تفحص تحت المجهر. في هذا الفحص، فإن عدد الغبيرات المنبتة، الذي يمكن تحديده بوضوح بواسطة تشكيل أنبوب جرثومة، يتحدد ويتعلق بعدد الغبيرات غير المنبتة. توضح نتائج عمليات العد في الجدول أدناه.

جدول 1: عمر تخزين الصياغة السائلة طبقا للاختراع من غبيرات *Paecilomyces lilacinus*

زمن التخزين	غبيرات منبتة (٪)
4 أسابيع	97.2
شهرين	97.4
3 شهور	95.4
4 شهور	95.8
5 شهور	95.1
6 شهور	94.1
7 شهور	94.7
8 شهور	93
9 شهور	94.1
10 شهور	93.5
11 شهر	92.8
12 شهر	92.3

مثال 2

يستخدم اختبار في إصيص واحد لبحث تأثير المستحضر السائل المنتج على أساس *Paecilomyces lilacinus* على مجموعة من الديدان الخيطية العقدة الجذرية (*Meloidogyne incognita*) في التربة وأيضا على الأعراض التي تسببها الديدان الخيطية على جذور الطماطم.

يستخدم مستحضر سائل، كما في مثال 1، يحتوي بدقة على 1×10^{11} من الغبيرات الفطرية الحية لكل ملليلتر. يملأ كل إصيص مع 1000 ملليلتر من التربة ويلقح مع 5000 بيضة ويرقانة من *Meloidogyne incognita*. لهذا الغرض، يتم عمل فجوات في التربة بالضغط، وينقل معلق الديدان الخيطية بواسطة ماصة في الفجوات. يطبق المستحضر السائل في اليوم التالي للتلقيح. لهذا الغرض، يخلط 10 ملليلتر من المستحضر السائل في 10 لتر من الماء.

من معلق الغبيرات الناتج، يتم إعطاء 10 ملليلتر لكل إصيص. بعدئذ، تزود الإصيصات بالماء حتى تتشبع التربة. إن الكمية المطبقة المستخدمة تقابل كمية مستحضر سائل بمقدار 0.01 ملليلتر لكل إصيص أو لتركيز غبيرات بمقدار 1×10^9 غبيرات لكل إصيص.

بعد 7 أيام من المعالجة، تزرع نباتات طماطم بارتفاع 15 سم تقريبا في الإصيصات. تكرر المعالجة بإجمالي 3 مرات، أولا بعد 3 أسابيع من الزراعة، وبعدئذ كل 4 أسابيع. يجرى تقييم الاختبار بعد 14 أسبوع من الزراعة (3 أسابيع بعد آخر تطبيق). كمقارن، يختبر شكل متباين غير معالج بالتوازي. يتم تقييم كلا الشكلين المتباينين، المعالج وغير المعالج، باستخدام 8 نسخ طبق الأصل. توضح في جدول 2 نتيجة الاختبار.

جدول 2: تأثير مستحضر سائل يتكون من غبيرات *Paecilomyces lilacinus* معلقة في trisiloxane معدل مع polyether (Break-Thru S 240) على تكاثر *Meloidogyne incognita* وعلى الأعراض التي تسببها الديدان الخيطية على الجذور

	عدد كتل بيض *M. incognita* لكل جذر	الأعراض طبقا لبرنامج تسجيل يتراوح من صفر إلى 10*
الإصيصات المعالجة مع مستحضر سائل	49	1.2
الإصيصات غير المعالجة	355	5.3

*) برنامج التسجيل: صفر = لا توجد أعراض، 10 = موت النباتات

مثال 3

تزرع فطريات *Nomuraea rileyi* على طبقة تحتية صلبة مناسبة تحت شروط ممحوضة. بعد الزراعة، تجفف الطبقة التحتية للمزرعة مع غبيرات فطرية مناسبة فيها.

تفصل الغبيرات بعدئذ من الطبقة التحتية للمزرعة الجافة بمساعدة طريقة تصنيف الهواء والترشيح. عندئذ، فإنها تحتوي على رطوبة متخلفة بمقدار 9.2٪. يعلق 7 جم من مسحوق الغبيرات المجففة، الذي له تركيز بمقدار 8.03×10^{10} غبيرات لكل جرام، في 100 ملليلتر مع trisiloxane معدل مع propylene glycol n-butyl ether. يحتوي المستحضر السائل الناتج على 5.62×10^9 غبيرات لكل ملليلتر و 5.19×10^9 غبيرات حية لكل ملليلتر. إن هذا يقابل تركيز الغبيرات الحية في المستحضر السائل بمقدار 92.35٪.

يحضن المستحضر السائل عند درجة حرارة الغرفة (20–22°مئوية)، وتتحدد قدرة إنبات غبيرات *Nomuraea rileyi* شهريا. لبحث القدرة الإنباتية، تؤخذ العينات بانتظام، تخلط مع ماء بنسبة 2000:1، تحضن لمدة 5 ساعات في هذا الخليط، وتنتشر في 0.1 ملليلتر على وسط نمو agar مناسب. تحضن أطباق agar بعدئذ عند 25°مئوية لمدة 40 ساعة ثم تفحص تحت المجهر. في هذا الفحص، فإن عدد الغبيرات المنبتة، الذي يمكن تحديده بوضوح بواسطة تشكيل أنبوب جرثومة، يتحدد ويتعلق بعدد الغبيرات غير المنبتة. توضح نتائج عمليات العد في جدول 3.

جدول 3: الثبات عند تخزين الصياغة السائلة طبقا للاختراع من غبيرات *Nomuraea rileyi*

زمن التخزين	غبيرات منبتة (٪)
4 أسابيع	91.3
شهرين	91.5
3 شهور	90.3
4 شهور	88.8
5 شهور	89.5
6 شهور	88.1
7 شهور	87.1
8 شهور	85.3
9 شهور	85.9
10 شهور	86.7
11 شهر	84
12 شهر	85.2

مثال 4

في اختبار معملي، تحفظ يرقانات *Spodoptera exigua* باستخدام نظام غذائي متشكل بصفة خاصة في أوعية Plexiglas صغيرة (قاعدة: 174 مم^2)عند رطوبة هواء نسبية بمقدار 75٪ وعند درجة حرارة بمقدار 26°مئوية +/− 2°مئوية. بعد 5 أيام من الفقس (المرحلة اليرقانية الثانية)، تعالج اليرقانات مع منتج جرثومة طبقا للاختراع. لهذا الغرض، يستخدم مستحضر سائل يحتوي تحديدا على 5×10^9 من الغبيرات الفطرية الحية لكل ملليلتر في

trisiloxane معدل مع tripropylene glycol methyl ether. لإنتاج معلق الرش، يخلط 10 ملليلتر أو 2 ملليلتر من المستحضر السائل المذكور في 4 لتر من الماء.من معلق الجرثومة الناتج، يتم رش 4 ملليلتر على مساحة مقدارها 100 سم^2. إن هذا يقابل كمية تطبيق سائل رش بمقدار 1000 ملليلتر أو 200 ملليلتر من المستحضر السائل لكل هكتار مخلوط في، في كلتا الحالتين، 400 لتر من الماء لكل هكتار. توضع الأوعية الصغيرة التي تتم فيها حضانة اليرقانات، عند وقت التطبيق، على المساحة التي يتم عليها تطبيق الرش. يتم تقييم الاختبار بعد اليوم 1، 3 و7 من المعالجة بتحديد عدد اليرقانات الميتة وتحديد نطاق معدل الوفيات. بصورة إجمالية، يتم اختبار 10 يرقانات لكل وعاء و3 أوعية لكل شكل متباين للاختبار.

جدول 4: معدل وفيات يرقانات *Spodoptera exigua* بعد المعالجة مع مستحضر سائل مذاب في ماء يتكون من غبيرات من فطريات *Nomuraea rileyi* معلقة في trisiloxane معدل مع tripropylene glycol methyl ether

المعالجة	كمية التطبيق	معدل الوفيات بعد يوم 1	معدل الوفيات بعد 3 أيام	معدل الوفيات بعد 7 أيام
شكل متباين غير معالج	صفر	صفر٪	صفر٪	9.37٪
مستحضر سائل يحتوي على غبيرات *Nomuraea rileyi*	200 ملليلتر/ هكتار	25٪	90.62٪	100٪
مستحضر سائل يحتوي على غبيرات *Nomuraea rileyi*	1000 ملليلتر/ هكتار	68٪	100٪	100٪

الأدبيات

Anonymous (2005): Vom Wirkstoff zum Produkt – die Formulierung macht's [From active substance to product – the formulation makes it possible]. KURIER, Das Bayer CropScience Magazin für moderne Landwirtschaft [KURIER, The Bayer CropScience Magazine for Modern Agriculture] 5(1): 6–9

Akbar W, Lord JC, Nechols JR, Loughind TM (2005): Efficacy of Beauveria bassiana for Red Flour Beetle When Applied with Plant Essential Oils or in Mineral Oil and Organosilicone Carriers. Journal of Economic Entomology 98(3): 683–688

Gatarayiha MC, Laing MD, Miller RM (2010): Effects of adjuvant and conidial concentration on the efficacy of Beauveria bassiana for the control of the two spotted spider mite, Tetranychus urticae. Experimental and Applied Acarology 50(3): 217–229

Legaspi JC, Poprawski TJ, Legaspi BC Jr. (2000): Laboratory and field evaluation of Beauveria bassiana against sugarcane stalkborers (Lepidoptera: Pyralidae) in the lower Rio Grande Valley of Texas. J Econ Entomol. 93(1): 54–9

Wekesa VW, Maniania NK, Knapp M, Boga HI (2005): Pathogenicity of Beauveria bassiana and Metarhizium anisopliae to the tobacco spider mite Tetranychus evansi. Experimental and Applied Acarology 36(1–2): 41–50

عناصر الحماية

1- مستحضر سائل (liquid preparation) لحماية النبات بيولوجيا يتكون من معلق يتكون من كائن متعضي مجهري (microorganism) نشط أو خليط من كائنات متعضية مجهرية (microorganisms) نشطة متعددة أو أعضاء من كائنات متعضية مجهرية (microorganisms) و trisiloxane معدل مع polyether.

2- المستحضر السائل (liquid preparation) كما تحدد في عنصر الحماية 1، يتميز بأن يكون trisiloxane المعدل مع polyether هو Break-Thru®.

3- المستحضر السائل (liquid preparation) كما تحدد في عنصر الحماية 1 أو 2، يتميز بأن يكون trisiloxane المعدل مع polyether هو Break-Thru® S 240.

4- المستحضر السائل (liquid preparation) كما تحدد في أي عنصر من عناصر الحماية من 1 إلى 3، يتميز بأن trisiloxane يتم تعديله مع:

propylene glycol n-butyl ether (PnB),

dipropylene glycol n-butyl ether (DPnB),

dipropylene glycol methyl ether acetate (DPMA),

tripropylene glycol methyl ether (TPM),

propylene glycol methyl ether (PM),

propylene glycol methyl ether acetate (PMA),

dipropylene glycol methyl ether (DPM),

tripropylene glycol monomethyl ether.

5- المستحضر السائل (liquid preparation) كما تحدد في أي عنصر من عناصر الحماية من 1 إلى 4، يتميز بأن يكون للكائن المتعضي المجهري (microorganism) النشط أو لخليط من الكائنات المتعضية المجهرية (microorganisms) النشطة أو لأعضاء من الكائن (الكائنات) المتعضي المجهري ((microorganism(s)) النشط تأثير تعضدي و/أو طفيلي مفرط موجه ضد كائنات متعضية (organisms) محددة تتسبب في مرض النبات.

6- المستحضر السائل (liquid preparation) كما تحدد في أي عنصر من عناصر الحماية من 1 إلى 5، يتميز بأن يكون للكائن المتعضي المجهري (microorganism) النشط أو لخليط من الكائنات المتعضية المجهرية (microorganisms) النشطة أو لأعضاء من الكائن

(الكائنات) المتعضي المجهري ((microorganism(s) النشط تأثير يحث المقاومة و/أو تأثير يحث مقاومة الإجهاد يتضح بذاته على النباتات أو تأثير يزيد من توافر المادة المغذية (nutrient).

7- المستحضر السائل (liquid preparation) كما تحدد في أي عنصر من عناصر الحماية من 1 إلى 6، يتميز بأن تكون المادة البيولوجية المجهرية (microbiological substance) النشطة عبارة عن فطريات أو خليط من فطريات متنوعة أو أعضاء من الفطريات/ الفطر.

8- المستحضر السائل (liquid preparation) كما تحدد في عنصر الحماية 7، يتميز بأنه يحتوي على فطريات أو فطريات متعددة أو أعضاء فطرية من واحد أو أكثر من فطريات الأنواع الفطرية *Ampelomyces quisqualis*، *Beauveria bassiana*، *Beauveria brongniartii*، *Clonostachys rosea*، *Coniothyrium minitans*، *Gliocladium catenulatum*، *Isaria* spp.، *Laetisaria arvalis*، *Lecanicillium lecanii*، *Lecanicillium muscarium*، *Metarhizium anisopliae*، *Nomuraea rileyi*، *Paecilomyces lilacinus*، *Phoma macrostoma*، *Pythium oligandrum*، *Talaromyces flavus*، *Teratosperma oligocladum*، *Trichoderma* spp. و *Verticillium biguttatum*.

9- المستحضر السائل (liquid preparation) كما تحدد في عنصر الحماية 7 أو 8، يتميز بأن تكون الأعضاء من الفطريات/ الفطر سواء جرثومات (spores)، غبيرات (conidia)، جرثومات برعمية (blastospores)، جرثومات كلاميدية (chlamydospores)، فطريات متصلبة (sclerotia) أو قطع من خيوط فطرية (hyphae segments) أو خليط من ذلك.

10- المستحضر السائل (liquid preparation) كما تحدد في أي عنصر من عناصر الحماية من 1 إلى 6، يتميز بأن تكون المادة البيولوجية المجهرية (microbiological substance) النشطة عبارة عن بكتير أو خليط من بكتيريا متنوعة.

11- المستحضر السائل (liquid preparation) كما تحدد في عناصر الحماية من 1 إلى 6، يتميز بأن تكون المادة البيولوجية المجهرية (microbiological substance) النشطة عبارة عن فيروس أو خليط من فيروسات متنوعة.

12- المستحضر السائل (liquid preparation) كما تحدد في عناصر الحماية من 1 إلى 6، يتميز بأن تكون المادة البيولوجية المجهرية (microbiological substance) النشطة عبارة عن خليط من الكائنات المتعضية المجهرية (microorganisms) المذكورة في عناصر الحماية 7،

8، 10 و11 أو من، في كل حالة، اثنين من الكائنات المتعضية المجهرية (microorganisms) المذكورة.

13- طريقة لإنتاج مستحضر سائل (liquid preparation)، تتميز بزراعة كائن متعضي مجهري (microorganism) ثم تعليقه في trisiloxane معدل مع polyether.

14- الطريقة كما تحدد في عنصر الحماية 13، تتميز بأن يكون trisiloxane المعدل مع polyether هو Break-Thru®.

15- الطريقة كما تحدد في عنصر الحماية 13 أو 14، تتميز بأن يكون trisiloxane المعدل مع polyether هو Break-Thru® S 240.

16- الطريقة كما تحدد في أي عنصر من عناصر الحماية من 13 إلى 15، تتميز بأن تكون المادة الفطرية تتم معالجتها بواسطة وسائل طحن و/أو تشتيت.

17- الطريقة كما تحدد في عنصر الحماية 16، تتميز بعزل الفطريات أو أعضاء فطرية محددة بعد المعالجة بطرق النخل، الترشيح، تصنيف الهواء أو الطرد المركزي.

18- الطريقة كما تحدد في أي عنصر من عناصر الحماية من 13 إلى 17، تتميز باستخدام الأنواع الفطرية:

Ampelomyces quisqualis

Beauveria bassiana

Beauveria brongniartii

Clonostachys rosea

Coniothyrium minitans

Gliocladium catenulatum

Isaria spp.

Laetisaria arvalis

Lecanicillium lecanii

Lecanicillium muscarium

Metarhizium anisopliae

Nomuraea rileyi

Paecilomyces lilacinus

Phoma macrostoma	16
Pythium oligandrum	17
Talaromyces flavus	18
Teratosperma oligocladum	19
Trichoderma spp.	20
Verticillium biguttatum	21

19- استخدام مستحضر سائل (liquid preparation) كما تحدد في أي عنصر من عناصر الحماية من 1 إلى 12 بالخلط في التربة، تطبيق إلى/ على النبات، أو معالجة البذور.

20- استخدام مستحضر سائل (liquid preparation) كما تحدد في عنصر الحماية 19، تتميز بتخفيف المستحضر السائل (liquid preparation) مع ماء إلى التركيز المستخدم المطلوب اعتمادا على الاستخدام المقصود.