



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2014118496/10, 07.05.2014

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
07.05.2014

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 07.05.2014

(43) Дата публикации заявки: 20.11.2015 Бюл. № 32

(45) Опубликовано: 20.04.2016 Бюл. № 11

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 2483540 C2, 10.06.2013. RU 2487542 C2, 20.07.2013. RU 2035144 C1, 20.05.1995. RU 2119748 C1, 10.10.1998.

Адрес для переписки:

127055, Москва, а/я 11, ООО "Попеленский,
Патентные поверенные"

(72) Автор(ы):

**СЕРЕГИН Виктор Владимирович (RU),
ФОКИН Олег Викторович (RU)**

(73) Патентообладатель(и):

**Общество с ограниченной ответственностью
"ФУНГИПАК" (RU)**

(54) БИОЛОГИЧЕСКИ-АКТИВНЫЙ ПРЕПАРАТ ДЛЯ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ ОТ ВРЕДИТЕЛЕЙ, СПОСОБ ЕГО ПОЛУЧЕНИЯ, МИКРОКОНТЕЙНЕР ДЛЯ НАЗВАННОГО ПРЕПАРАТА, СПОСОБ ЕГО ИЗГОТОВЛЕНИЯ И СПОСОБ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ ОТ ВРЕДИТЕЛЕЙ

(57) Реферат:

Группа изобретений относится к области защиты растений от вредителей. Предложен способ получения биологически-активного препарата для защиты растений, биологически-активный препарат для защиты растений, способ изготовления микроконтейнеров для осуществления способа, микроконтейнер для биологически-активного препарата, а также способ защиты растений от вредителей, где способ включает активацию биологически-активного препарата и нанесение его на растения. Способ получения биологически-активного препарата включает введение энтомопатогенных грибов и жидкой фазы в микроконтейнеры, декантацию жидкой фазы и высушивание микроконтейнеров вместе со спорами

энтомопатогенных грибов. Способ изготовления микроконтейнеров включает введение в растворитель полиизоцианата, перемешивание полученного раствора в водной дисперсионной среде до получения микроэмульсии, получение микрокапсул и нагревание микрокапсул с перфорацией их оболочки и образованием в ней отверстий. Изобретения обеспечивают минимизирование влияния негативных факторов на жизнеспособность активного вещества биоинсектицидов, улучшение потребительских и коммерческих свойств биологически-активных препаратов при массовом использовании, расширение диапазона применения биоинсектицидов. 5 н. и 5 з.п. ф-лы, 16 ил., 4 пр.

RU 2 581 929 C2

RU 2 581 929 C2



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
A01N 63/04 (2006.01)
C12N 1/14 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21)(22) Application: 2014118496/10, 07.05.2014

(24) Effective date for property rights:
07.05.2014

Priority:

(22) Date of filing: 07.05.2014

(43) Application published: 20.11.2015 Bull. № 32

(45) Date of publication: 20.04.2016 Bull. № 11

Mail address:

127055, Moskva, a/ja 11, OOO "Popelenskij,
Patentnye poverennye"

(72) Inventor(s):

**SEREGIN Viktor Vladimirovich (RU),
FOKIN Oleg Viktorovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Obshchestvo s ogranichennoj otvetstvennostju
"FUNGIPAK" (RU)**

(54) **BIOLOGICALLY ACTIVE PREPARATION FOR PROTECTING PLANTS FROM PESTS, PRODUCTION METHOD THEREOF, MICROCONTAINER FOR SAID PREPARATION, METHOD OF MAKING SAME AND METHOD OF PROTECTING PLANTS FROM PESTS**

(57) Abstract:

FIELD: agriculture.

SUBSTANCE: group of inventions relates to protecting plants from pests. Disclosed is a method of producing biologically active preparation for protection of plants, biologically active preparation for protection of plants, method of producing micro containers for method implementation micro container for biologically active preparation and method of protecting plants from pests, where method involves activation of biologically active preparation and its application onto plants. Method of producing biologically active preparation involves introduction of entomopathogenic fungi and liquid phase in micro containers enclosed, decantation of liquid phase and drying micro containers together

with entomopathogenic fungi spores. Method of making micro containers involves adding solvent polyisocyanate, stirring obtained solution in aqueous dispersion medium until micro emulsion state, production of microcapsules and heating of microcapsules with perforated shell and forming holes in it.

EFFECT: invention enables minimising the effect of adverse factors on the active substance bio insecticides viability, improved consumer and commercial properties of biologically active preparations during mass use, wider range of bio insecticides application.

10 cl, 16 dwg, 4 ex

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к области защиты растений от вредителей и предназначено для использования в промышленных, научных целях, сельском хозяйстве, садоводстве и лесоводстве. В частности, изобретение предлагает способ защиты растений от вредителей посредством обработки растений биологически активным препаратом, в котором биоинсектицид помещен в защитный микроконтейнер. Изобретение также предлагает вышеназванные биологически активный препарат и микроконтейнер и способы их получения и изготовления.

Уровень техники

Масштабное применение пестицидов имеет ряд существенных недостатков, важнейшими из которых являются возникновение резистентных популяций вредителей и загрязнение окружающей среды. Кроме того, многолетний опыт борьбы с саранчовыми свидетельствует о том, что инсектициды обеспечивают обычно лишь временное снижение численности и вредоносности в местах их применения, но в целом практически не могут повлиять кардинально на ход многолетней динамики численности. Напротив, тотальные обработки дестабилизируют экологическую ситуацию за счет истребления естественных врагов и природных эпизоотии, что удлиняет периоды массового размножения на несколько лет.

Одним из таких способов подавления вредных фитофагов является микробиологический метод защиты.

Препараты на основе энтомопатогенных микроорганизмов достаточно известны и широко применяются во всем мире для регулирования численности саранчовых. В отличие от жестких химических инсектицидов, наносящих непоправимый вред экосистемам и законодательно запрещенных в водо- и природоохранных зонах, биоинсектициды относятся к веществам, не наносящим ущерб рекреационным и водоохраным зонам, безопасны для теплокровных животных, в т.ч. человека, могут применяться в районах производства экологически чистых продуктов.

Вышесказанная проблематика широко освещается в многочисленных публикациях, например: в журнале "Агрехимия", 2010, № 12, с. 24-28, "Влияние наполнителей на биологическую эффективность биомассы конидий энтомопатогенного гриба *Beauveria bassiana* против саранчовых в условиях Казахстана" под авторством В.Ю. Крюкова и др.; в работах Lomer C.J., Bateman P.P., Johnson D.L., Lagewald J., Thomas M. Biological control of locusts and grasshoppers // *Annu. Rev. Entomol.* 2001. V. 46. P. 667-702, и Charnley A.K., Collins S.A. Entomopathogenic fungi and their role in pest control // *Environmental and microbial relationships. The Mycota: A comprehensive treatise on fungi as experimental systems for basic and applied research* / Eds. C.P. Kubicek, K. Esserand I.S. Druzhinina. Springer, 2007. P. 159-187; Лачининского А.В., Сергеева М.Г., Чильдебаев М.К., Черняховский М.Е., Локвуд Дж.А., Камбулин В.Е., Гаппарова Ф.А. "Саранчовые Казахстана, Средней Азии и сопредельных территорий", Ларами: МАПА и Ун-т Вайоминга, 2002. 387 с.

Однако использование энтомопатогенных микроорганизмов против саранчовых сопряжено с рядом трудностей, связанных с нестабильностью их действия. В первую очередь это обусловлено такими лимитирующими факторами аридного климата, как солнечная инсоляция, высокая температура и низкая влажность воздуха. Известно, что под действием прямого солнечного света конидии грибов теряют жизнеспособность в течение нескольких часов, что приводит к значительному снижению эффективности микоинсектицидных биопрепаратов. Об этом говорится в работах: Громовых Т.И. "Энтомопатогенные грибы в защите леса", Новосибирск: Наука, 1982. 80 с., Inglis G.D., Johnson D.L., Goettel M.S. "Effects of temperature and sunlight on mycosis (*Beauveria bassiana*)

(Hyphomycetes: Sympodulosporae) of grasshoppers under field conditions // Environ. Entomol 1997. V. 26. P. 400-409, Braga G.U.L, Flint S.D., Messias C.L, Anderson A.J., Roberts D.W. Effect of UV-B on conidia and germlings of the entomopathogenic hyphomycete *Metarhizium anisopliae* // Mycol. Res. 2001. V. 105. № 7. P. 874-882, Braga G.U.L, Flint S.D., Miller CD., Anderson A.J., Roberts D.W. Variability in response to UV-B among species and strains of *Metarhizium* isolated from sites at latitudes from 61°N to 54°S // J. Invertebr. Pathol. 2001. V. 78 P. 98-108, Wraight S.P., Inglis G.D., Goettel M.S. Fungi // Field manual of techniques in invertebrate pathology. Application and evaluation of pathogens for control of insects and other invertebrate pests. Springer, 2007. P. 223-248.

Поэтому актуальным представляется поиск наполнителей протекторов энтомопатогенных микроорганизмов. В нескольких исследованиях показана перспективность использования таких наполнителей, как глины, гуматы, активированный уголь, диоксид титана, оксид цинка, флюорисцентные отбеливатели (Tinopal LPW, Blankophor BSU), растительные и минеральные масла, меласса, сухое молоко, яичный альбумин и др. См., например работы: Inglis G.D., Goettel M.S., Johnson D.L. Influence of ultraviolet light protectants on persistence of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* // Biol. Contr. 1995. V 5. № 4. P. 581-590, Edgington S., Segura H., de La Rosa W., Williams T. Photoprotection of *Beauveria bassiana*: testing simple formulations for control of the coffee berry borer // Int. J. Pest Manag. 2000. V. 46. № 3. P. 169-176; Kassa A. Development and testing of mycoinsecticides based on submerged spores and aerial conidia of the ento-mopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) for control of locusts, grasshoppers and storage pests. Doctoral diss. Göttingen: Georg-August-University, 2003. 170 p.; Inglis G.D., Goettel M.S., Eriandson M.A., Weaver D.K. Grasshoppers and locusts // Field manual of techniques in invertebrate pathology. Application and evaluation of pathogens for control of insects and other invertebrate pests. Springer, 2007. P. 627-654.

Данные протекторы могут различаться по своей эффективности в зависимости от видов используемых микромицетов, целевых объектов и среды их обитания.

Среди всего разнообразия энтомопатогенных микроорганизмов одной из наиболее перспективных групп с точки зрения контроля численности саранчовых, как показывают вышеприведенные работы, являются грибы из ряда анаморфных родов - *Metarhizium* и *Beauveria*. В результате проведенных работ было создано и успешно внедрено два препарата на основе гриба *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* - Green Muscle® (ЮАР) и Green Guard® (Австралия), обладающие высокой биологической эффективностью (85-95%) против перелетной, пустынной, мароккской саранчи и кобылок. На основе *B. bassiana* в США созданы два экспериментальных противосаранчовых препарата - Mucocide GN® и Mucotrol®. К. Однако испытания данных препаратов на территории бывшего СССР показали их низкую эффективность в климатических условиях территорий бывшего СССР. Анализ испытаний показал, что данные препараты крайне чувствительны к УФ-излучению, температуре и влажности окружающей среды. Предлагаемые методы обработки сельскохозяйственных площадей в составе водомасляных суспензий, гуматов, глины, мелассы и других широко применяемых наполнителей существенным образом не улучшают результатов их действия и при этом закрывают возможность использования таких препаратов при ультрамалом опрыскивании.

Настоящее изобретение направлено на дальнейшее развитие наполнителей протекторов энтомопатогенных микроорганизмов, причем в совершенно ином, чем в вышеописанном известном уровне техники, направлении, не имеющем ближайших

аналогов. Техническое решение согласно настоящему изобретению позволяет минимизировать влияние негативных факторов на жизнеспособность активного вещества биоинсектицидов, в частности энтомопатогенных микроорганизмов, улучшить потребительские и коммерческие свойства биологически активных препаратов при массовом использовании, расширить диапазон применения биоинсектицидов до ультрамалого опрыскивания.

Раскрытие изобретения

Настоящее изобретение предлагает способ получения биологически активного препарата для защиты растений от вредителей, который заключается во введении биологически активной суспензии в виде спор грибов и жидкой фазы в микроконтейнеры и последующей декантации жидкой фазы и высушивании микроконтейнеров вместе со спорами грибов.

В качестве грибов могут использоваться энтомопатогенные грибы, в частности энтомопатогенный гриб, выбранный из группы, включающей *Beauveria bassiana*, *Pandora neoaphidis*, *Entomophaga maimaiga*, *Metharhizium anisopliae* var. *acridium* и *Metharhizium anisopliae* var. *anisopliae* и более предпочтительно энтомопатогенный гриб вида *Metharhizium anisopliae* var. *acridium*.

В вышеупомянутый микроконтейнер может вводиться от 1 до 100 спор грибов.

Настоящее изобретение предлагает также биологически активный препарат для защиты растений от вредителей и болезней, полученный вышеописанным способом, а также способ изготовления микроконтейнеров для осуществления вышеописанного способа, согласно которому получают микрокапсулы с оболочкой из полимерного материала и ядром из органического растворителя, нагревают микрокапсулы до температуры 300°C для перфорации оболочки и образования в ней отверстий под воздействием давления пара растворителя, при этом размеры отверстий регулируются соотношением компонентов полимерного материала оболочки и изменением давления пара растворителя.

В вышеуказанном способе изготовления микроконтейнеров микрокапсулы могут быть получены с размером от 5 до 500 мкм.

В качестве полимерного материала может использоваться полимочевина.

Толщина вышеупомянутой оболочки может быть выбрана от 0,05 до 5 мкм.

Размеры вышеуказанных отверстий могут регулироваться до диаметра, по меньшей мере, 5 мкм.

Настоящее изобретение охватывает также конструкцию микроконтейнера, полученного вышеописанным способом изготовления микроконтейнеров, а также способ защиты растений от вредителей, включающего в себя активацию вышеописанного биологически активного препарата в водной среде и нанесение названного препарата на растения.

Настоящее изобретение заключается в основной идее использования в качестве наполнителя-протектора биоинсектицида микроконтейнера с "программируемыми свойствами", изготовленного из синтетического полимера в виде пустотелой емкости с отверстиями для введения спор. Подобный микроконтейнер имеет следующие преимущества перед известными наполнителями:

1. Дисперсность - размеры микроконтейнера от 1 до 500 мкм. Можно задать при их получении. Не требуется измельчение наполнителя-протектора. Универсальность для разных спор.

2. Диаметр отверстий в оболочке наполнителя-протектора - можно задать при получении микроконтейнера для различных размеров спор. Универсальность для

разных спор.

3. Инертный полимер оболочки наполнителя-протектора по отношению к спорам и окружающей среде.

4. Биоразлагаемый полимер оболочки наполнителя-протектора, что способствует поддержанию экологической безопасности.

5. Полимер оболочки наполнителя-протектора обладает защитными свойствами от солнечного излучения.

6. Полимер оболочки наполнителя-протектора практически не меняет своих свойств при температуре от минус 20 до плюс 50°C, и свойства микроконтейнера не меняются в этих условиях.

7. Полимер наполнителя-протектора нерастворим в воде и не набухает в ней.

Микроконтейнер согласно настоящему изобретению полностью защищает биоинсектицид, находящийся в нем, от вредного УФ-излучения, поддерживает необходимую внутри себя влажность для жизни микроорганизмов, защищает их от высоких температур, имеет пролонгированное заранее заданное время действия и хорошие "прилипающие" свойства. Размер микроконтейнеров может согласовываться с основными производителями оборудования для ультрамалого опрыскивания.

Ультрамалое опрыскивание представляет собой мелкокапельное опрыскивание препаратом (т.е. не менее 80% препарата разбрызгивается в виде капель с размером от 50 до 150 мкм) обрабатываемой поверхности в норме расхода препарата до 5 литров на гектар. Ультрамалое опрыскивание обеспечивает хорошее проникновение препарата в междурядья даже загущенных посевов, высокую плотность покрытия растений, в том числе нижней части листьев, что позволяет снизить расход препарата по меньшей мере на 20-30%, в сравнении с другими способами опрыскивания.

Применение химических инсектицидов законодательно ограничено или запрещено в водоохраных и природоохраных зонах, где и происходит развитие саранчовых. Таким образом, создание принципиально нового безопасного биологически активного препарата позволит существенно увеличить обрабатываемые площади и, как следствие, предотвратить губительное нашествие на сельхозугодья особо опасных вредителей.

Настоящее изобретение предлагает иное, чем в предшествующем уровне, направление развития наполнителей протекторов биоинсектицидов. Оно предлагает поместить биоинсектицид в микроконтейнер и тем самым эффективно защитить его от негативных воздействий окружающей среды с последующей регулируемой скоростью его высвобождения. Техническое решение согласно настоящему изобретению позволяет:

1. Снизить в 3,8-4,2 раза воздействие УФ-излучения за счет помещения спор гриба внутрь микроконтейнера, где они будут находиться, а не в смеси с наполнителем или на его поверхности. В последнем случае происходит снижение интенсивности воздействия УФ-излучения, например, в масляно-водном растворе за счет снижения скорости испарения, а в первом случае происходит защита непосредственно стенкой микроконтейнера от солнечной радиации самих конидий гриба и тем самым создаются наиболее благоприятные условия для их развития.

2. Снизить влияние высокой температуры, например, поверхности почвы или растительности. Как показано выше, рядом авторов показано на примере конидий энтомопатогенных грибов, что при повышении температуры происходит их гибель до наступления требуемого эффекта. Помещение биоинсектицида внутрь микроконтейнера создает своеобразный термос, препятствующий чрезмерному перегреву действующего вещества. При применении микроконтейнера внешняя температура 60-70°C не является критичной для микроорганизмов и гибель проросших конидий на поверхности

контейнера не является критической для эффективной работы препарата.

3. Снизить влияние фактора влажности. При высокой солнечной активности и высокой температуре происходит интенсивное испарение влаги, необходимой для нормального развития биоинсектицидов. Конидии гриба в результате пересыхания переходят в спорую неактивную фазу и теряют свои способности в качестве биоинсектицида. Для конидий гриба при помещении внутрь микроконтейнера согласно настоящему изобретению, с предварительным их замачиванием в жидкости, создаются идеальные условия развития микроорганизмов внутри контейнера с регулируемым выходом микроспор на поверхность контейнера. При соприкосновении с поверхностью микроконтейнера происходит контактное заражение вредителей спорами энтомопатогенных грибов. Благодаря заданной скорости выхода на поверхность конидий биологически активный препарат согласно настоящему изобретению, в отличие от применяемых, обладает пролонгированным действием в течение нескольких дней, тогда как известные химические и биологические инсектициды сохраняют свою активность в течение нескольких часов или в лучшем случае первых суток с момента применения, что позволяет применять биопрепараты без жесткой привязки к временным рамкам.

4. Улучшить адгезионные свойства биологически активных препаратов для защиты растений от вредителей путем придания специальных свойств стенкам микроконтейнера. Так лабораторные исследования показали существенное улучшение ветровлагоустойчивости данной препаративной формы по сравнению с традиционными. При попадании на поверхность растения или почву препарат согласно настоящему изобретению не скатывается, а надежно фиксируется на поверхности и, в случае попадания внутрь организма вредителя, прорастает там.

5. Увеличить вес биологически активного препарата для защиты растений от вредителей в сравнении с весом активного вещества этого препарата (например конидий грибов), что позволяет при авиаобработке избежать эффекта тумана над обрабатываемой площадью, а возможность задавать необходимые размеры микроконтейнера (от 5 до 500 мкм) дает неоспоримое преимущество при использовании препарата для ультрамалого опрыскивания, с минимальным использованием жидкости, что особо необходимо в условиях засушливого и пустынного климата. 6. Отказаться от применяемой во всем мире традиционной наработки конидиальной массы методом двухфазного культивирования, когда вначале проводится глубинное культивирование в течение нескольких суток, а затем инокулят наносится на поверхностные носители с целью наработки биомассы гриба в течение нескольких недель. Предлагаемые настоящим изобретением способы позволяют отказаться от поверхностного культивирования, требующего значительных площадей, энергозатрат и трудозатрат. Способы согласно настоящему изобретению позволяют из реактора (ферментера) вносить конидиальную массу гриба непосредственно в микроконтейнер при значительном увеличении концентрации активного вещества внутри микроконтейнера по сравнению с исходной в растворе.

Краткое описание чертежей

На Фиг. 1 представлены пустотелые емкости, заполненные органическим растворителем - микрокапсулы. Микрокапсулы выполнены из полимочевины, а в качестве органического растворителя выступает ксилол. На фигуре отмечены диаметры микрокапсул (14,53 мкм, 81,48 мкм и 122,73 мкм).

На Фиг. 2-3 представлены пустотелые емкости с по меньшей мере одним отверстием - микроконтейнеры. В качестве среды выступает вода.

На Фиг. 4 представлены микроконтейнеры в жидкой фазе при 100-кратном увеличении. На данной фигуре также отмечены диаметр микроконтейнера (157,09 мкм) и отверстия в нем (40,40 мкм).

5 На Фиг. 5-6 представлены микроконтейнеры, содержащие конидии грибов, при 400-кратном увеличении. На Фиг.5 отмечены диаметр отверстия микроконтейнера (44,30 мкм) и диаметры конидии грибов (4,59 мкм и 4,21 мкм). На Фиг. 6 конидии отмечены стрелками.

На Фиг. 7 представлены микроконтейнеры, содержащие конидии грибов (показано стрелками), помещенные в жидкую фазу с конидиями грибов.

10 На Фиг. 8 представлен микроконтейнер с отверстием.

На Фиг. 9 представлены споры энтомопатогенных грибов в жидкой фазе. Диаметр спор составляет от 3,5 до 5 мкм. На фигуре отмечены диаметры спор (3,65 мкм, 3,89 мкм и 4,65 мкм).

15 На Фиг. 10 представлены микроконтейнеры, содержащие конидии грибов, помещенные в жидкую фазу.

На Фиг. 11 представлен график смертности личинок саранчи при использовании микроинсектицидного препарата в различных препаративных формах. Препаративными формами обрабатывались насекомые на затененном участке.

20 На Фиг. 12 представлен график смертности личинок саранчи при использовании микроинсектицидного препарата в различных препаративных формах. Препаративными формами обрабатывались насекомые на открытых площадках.

На Фиг. 13 представлен график смертности личинок саранчи при использовании микроинсектицидного препарата в различных препаративных формах. Препаративными формами обрабатывался корм с подсушиванием на затененном участке.

25 На Фиг. 14 представлен график смертности личинок саранчи при использовании микроинсектицидного препарата в различных препаративных формах. Препаративными формами обрабатывался корм с подсушиванием на открытых площадках.

30 На Фиг. 15 представлен график смертности личинок саранчи при использовании микроинсектицидного препарата в различных препаративных формах. Препаративными формами обрабатывалась почва перед непосредственным заселением насекомых.

На Фиг. 16 представлен график смертности личинок саранчи при использовании микроинсектицидного препарата в различных препаративных формах. Препаративными формами обрабатывалась почва с последующей выдержкой перед заселением насекомых.

Сущность изобретения

35 Как сказано выше, сущностью настоящего изобретения является создание принципиально нового способа получения биологически активного препарата для защиты растений от вредителей, в котором активное вещество названного препарата помещается внутрь микроконтейнера.

40 Таким образом, основным средством для осуществления вышеназванного способа получения биологически активного препарата для защиты растений от вредителей являются микроконтейнеры, и настоящее изобретение предлагает также способ изготовления таких микроконтейнеров, заключающийся в применении метода микрокапсулирования для получения специальных микрокапсул, из которых при определенных температурных режимах получают микроконтейнеры за счет перфорации 45 оболочки микрокапсул и образования в ней отверстий.

Известны способы получения микрокапсул, содержащих растворы пиретроидных и фосфорорганических инсектицидов в органических растворителях, а также микрокапсул, содержащих только органические растворители. В этих способах раствор

инсектицида или органический растворитель смешивают с полифункциональным изоцианатом, причем инсектицид перемешивают до получения однородного раствора, прибавляют к водному раствору этиленгликоль или поливиниловый спирт, перемешивают при 4700 об/мин и 70°C в течение 18 часов с получением целевого продукта (см., например, патент Великобритании № 2214080, кл. A01N 25/28, 1989 г.). Однако подобные способы признаются недостаточно эффективными, поскольку они являются трудоемкими. Кроме того, в данных способах в процессе получения микрокапсул используются токсичные органические соединения.

Известны также способы получения микрокапсул препаратов для уничтожения бытовых насекомых, основанные на приготовлении композиции, состоящей из микрокапсул с ядром из активного инсектицидного материала, причем в качестве активного инсектицидного материала применяется раствор хлорпирифоса в органических растворителях или способ получения микрокапсул, содержащих фреоны. Однако в первом случае используется раствор инсектицида, а во втором получается тонкостенная оболочка, которая полностью разрушается при нагревании микрокапсул.

В настоящем изобретении предлагается упрощенный метод получения микрокапсулированного растворителя за счет сокращения времени синтеза и получения оболочки микрокапсулы, не разрушающейся при нагревании полностью.

Вышеуказанный метод согласно настоящему изобретению осуществляется за счет того, что в методе получения микрокапсул, основанном на приготовлении водной суспензии, состоящей из микрокапсул с ядром из органического растворителя, окруженного оболочкой из полимерного материала, для образования микрокапсул в растворитель вводят полиизоцианат, после чего полученный раствор перемешивают в водной дисперсионной среде, содержащей 0,5% поливинилового спирта в дистиллированной воде, в течение 5-20 мин до получения микроэмульсии с размером частиц, равным 5-500 мкм, затем для формирования оболочки микрокапсул непрерывно вводят 10%-ный раствор полиэтиленполиамины в воде при снижении скорости перемешивания; при этом соотношение растворенного в капсулированном растворе полиизоцианата и растворяемого в водной дисперсионной среде полиэтиленполиамины составляет 1:1.

При синтезе микрокапсул используют:

Ксилол (ТУ 6-09-3825-88 изм. 1.2)

Бесцветная прозрачная жидкость; массовая доля основного вещества, % масс., не менее 99,3; плотность при 20°C, г/см³ - 0,876-0,880; температурные пределы перегонки при 760 торр, в которых должно перегоняться не менее 95% об. препарата - 143-145°C; бромное число, в г брома на 100 г препарата не более 0,05; степень очистки по образцовой шкале не выше 0,15; за жиренность не более 10.

Бутилацетат - представляет собой бесцветную прозрачную жидкость с характерным запахом (ГОСТ 22300-76), массовая доля основного вещества не менее 98,3% масс.; массовая доля нелетучих веществ не более 0,002% масс.; массовая доля кислот (в пересчете на уксусную кислоту) не более 0,005% масс.; массовая доля воды не более 0,1% масс.

Полиэтиленполиамин (ПЭПА), ТУ 2413-357-00203447-99 - коричневая прозрачная жидкость; массовая доля общего азота 30; наличие хлориона - отсутствует; массовая доля минеральных примесей 0,2; массовая доля фракции, отгоняемой при остат. давлении 1,3 кПа (10 мм Нг) в температурных пределах:

0,75°C не более следы 1,

от 0,75°C до 200°C не менее 23,0;

массовая доля кубового остатка, кипящего выше 200°C, - в пределах 65-75; массовая доля третичных аминогрупп - в пределах 5-9; массовая доля воды - не более 2; массовая доля азота, титруемого кислотой, в пределах 19,5-22,0%; отверждающая способность - не более 1,5 час.

5 Полиизоцианат - красновато-коричневая вязкая жидкость, кристаллизуется ниже 10°C; $t_{\text{кипения}}$ - 400°C; d_4^{20} - 1,22-1,25; $t_{\text{исп}}$ - 185°C.

Поливиниловый спирт, ТУ 6-09-4004-67, термопласт микрокристаллической структуры, молярная масса 10-50 тыс.; $t_{\text{стеклования}}$ - 57°C, плотность - 1,29 г/см³,
10 $t_{\text{разложения}}$ - 220-235°C (без плавления), растворяется в горячей воде, устойчив в маслах, жирах; разбавляется в кислоте и щелочах.

Получение микроконтейнеров осуществляется в два этапа. На первом этапе известным способом получают микрокапсулы, содержащие органический растворитель, а затем из этих микрокапсул на втором этапе изготавливаются микроконтейнер.

15 Пример 1. Изготовление микрокапсул.

Приготавливаются:

1. Раствор (1) полиизоцианата в ксилоле (или бутилацетате)
20 концентрацией 10 % - 200 г
2. Раствор (2) поливинилового спирта в дистиллированной воде
концентрацией 0,5 % - 600 мл
- 25 3. Вода, дистиллированная для разбавления полученной реакционной
массы - 200 мл
- 30 4. Полиизоцианат - 20 г
5. Раствор (3) полиэтиленполиамины в воде концентрацией 10 %
. - 15 мл

35 Первая стадия. Получение эмульсии раствора полиизоцианата и первичных оболочек микрокапсул

1. В растворе 1 растворяется полиизоцианат.
2. Раствор 2 заливается в реактор-эмульгатор, производится перемешивание в среднем режиме и выдержка не менее 5 мин.
3. В реактор-эмульгатор дозируется раствор 1 в режиме тонкой струи.
- 40 4. Увеличивают обороты мешалки до получения эмульсионных капель требуемого размера (при контроле осуществляется путем отбор проб, исследуемых под микроскопом), смесь выдерживается в этих условиях не менее 7 минут до постоянства микрокартины.
- 45 5. К полученной смеси медленно закапывается раствор 3 (за 20 минут).
6. Снижается скорость вращения мешалки до четверти от максимума, и все выдерживается при перемешивании не менее 10 минут.

Вторая стадия. Нарращивание оболочек микрокапсул

7. Останавливается перемешивание, и полученная масса выливается в реактор-

накопитель с 200 мл воды. Затем снова осуществляется медленное перемешивание и отслеживание предотвращения образования осадка, после чего полученная масса (Фиг. 1) переливается в емкость для хранения.

Для получения больших количеств микрокапсул первая стадия проводится многократно со сливом полученного продукта в реактор-накопитель, при этом каждый раз добавляется 200 мл воды.

Пример 2. Изготовление микроконтейнеров

Из полученной суспензии микрокапсул удаляется водная фаза методом декантации и вакуумного фильтрования. Затем влажные микрокапсулы высушиваются при температуре 55-75°C в проточных условиях до постоянного веса.

Высушенные микрокапсулы помещаются в термошкаф при температуре 200-300°C и выдерживаются в этих условиях при периодическом перемешивании до постоянного веса. В результате растворитель удаляется из микрокапсул, перфорируя (прорывая) их оболочку с формированием микроконтейнеров (Фиг. 2, 3, 4 и 8).

Размер отверстия микроконтейнера, получаемого прорывом паров растворителя внутри сферической микрокапсулы, определяется следующими взаимозависимыми параметрами:

1. Прочностью оболочки микрокапсулы, которая определяется ее толщиной и диаметром микрокапсулы, а также прочностными характеристиками материала оболочки, то есть химическим составом полимера.

2. Величиной давления насыщенного пара растворителя, находящегося внутри микрокапсулы, и скоростью нарастания этого давления при нагревании микрокапсулы.

При одном и том же диаметре микрокапсул и одинаковой толщине оболочки для получения относительно маленьких отверстий необходимо высокое давление насыщенного пара растворителя и медленный нагрев микрокапсулы. Для больших отверстий - низкое давление насыщенного пара растворителя и медленный нагрев микрокапсулы.

Материал оболочки может быть из одного и того же полимера (например, полимочевины), но разного состава и из любого другого полимера, тогда меняются параметры по давлению насыщенного пара и скорости его нарастания при нагреве микрокапсулы для получения отверстия заданного размера.

Если микрокапсулы из полимочевины определенного состава имеют диаметр 50 мкм, толщину оболочки 0,5 мкм, а в качестве растворителя выступает ксилол, то их нагрев от комнатной температуры до 240°C за 5 минут даст диаметр отверстия 5 мкм, тогда как нагрев за 30 минут - 15 мкм.

При изменении только состава полимочевины вышеперечисленные процедуры по нагреву уже дадут другие диаметры отверстий. Если поменять толщину оболочки, то меняются размеры отверстий. Также размеры отверстий будут меняться в зависимости от вида полимера и растворителя.

Поэтому при получении микроконтейнеров диаметры отверстий в них закладываются заранее, исходя из исходных параметров микрокапсул - прочность оболочки микрокапсулы и давления насыщенного пара, то есть еще при синтезе микрокапсул, когда они заранее рассчитываются. При этом учитывают, что отверстие не может быть больше диаметра микрокапсулы, а отверстия диаметром меньше размера споры гриба не имеет смысла получать. Микроконтейнер диаметром меньше диаметра споры не нужен.

Пример 3. Получение биологически активного препарата

1 литр биологически активной суспензии в виде спор грибов и жидкой фазы

помещается в емкость объемом 2 литра (Фиг. 9), снабженную перемешивающим устройством с пропеллерной мешалкой, и перемешивается со скоростью 300-700 оборотов в минуту.

Затем в эту емкость небольшими порциями дозируются микроконтейнеры в количестве 50 грамм и полученная масса перемешивается в течение 40-60 минут. Контроль окончания введения спор в микроконтейнеры осуществляется турбидиметрическим методом по достижении постоянной оптической плотности в отбираемых периодически пробах жидкой фазы. Микроконтейнеры с введенными в них спорами представлены на Фиг. 5, 6, 7 и 10.

Потом из полученной суспензии микроконтейнеров удаляется водная фаза методом декантации и вакуумного фильтрования и влажные микроконтейнеры, содержащие споры, высушиваются при температуре 25-45°C в проточных условиях до постоянного веса.

Пример 4. Сравнительные испытания противосаранчовых микроинсектицидных препаратов в различных препаратажных формах

Целью данных испытаний являлась оценка динамики смертности стадных саранчовых от грибной инфекции в зависимости от препаративных форм микроинсектицидов противосаранчовых препаратов.

Исследования проводились на основе следующих препаративных форм основанных на конидиях *Beauveria bassiana* (Balsamo-Crivelli) Vuillemin:

1. Водная суспензия.
2. Масляная суспензия.
3. Конидии, помещенные в микроконтейнер по настоящему изобретению.

Исследования проводились на личинках разных возрастов и имаго азиатской саранчи и итальянского пруса. В качестве контроля выступали необработанные личинки саранчи.

Обработка велась следующими методами:

1. Нанесение растворов непосредственно на насекомое путем опрыскивания ручным распылителем.

2. Обработка корма.

3. Обработка почвы.

Методика проведения опытов

Инфекционную нагрузку вносили из расчета $7 \cdot 10^{12}$ конидий/га. Эксперименты проводились в закрытых мелкой сеткой садках размером 100×100×100 см, размещенных на открытом и затененном участках. Для уменьшения ветрового переноса конидий гриба садки были разделены ветрозащитной перегородкой. Количество особей в одном садке составляло 20 экземпляров. Погодные условия: температура воздуха средняя 23-25°C до 36°C, температура почвы до 45°C, влажность 49-56%, ветер от 5 до 15 м/с. Наблюдения проводились в течение 30 суток.

1. Обработка насекомого

Анализ уровня смертности личинок при использовании различных препаративных форм показал следующие результаты.

На затененном участке

Гибель насекомых составила 80-100% на 25-27 день опытов для всех препаративных форм (Фиг. 11). При этом стоит отметить, что водная эмульсия биоинсектицида менее эффективна во времени по сравнению с масляной суспензией и суспензией микроконтейнеров. Так, гибель до 40% особей при обработке водной суспензией наступала на 14-16 сутки, а при обработке масляными суспензиями и суспензиями микроконтейнеров на 8-9 сутки (Фиг. 11).

На открытых площадках

При интенсивной солнечной освещенности эффективность водной суспензии упала более чем в два раза и уровень смертности насекомых составил не более 40-45% на 25
5 сутки эксперимента (Фиг. 12). Данный факт, вероятней всего, объясняется тем, что в течение первых 10-16 часов грибок не проник в полость тела насекомого, а из-за высокой солнечной инсталляции произошла гибель конидий. Вторым фактором может служить то, что при отсутствии адгезионных свойств в растворе происходит скатывание частиц (капель раствора) с тела насекомого без его поражения. В случае применения масляных суспензий эффективность микоинсектицида снизилась в среднем до уровня смертности
10 в 60-70% (Фиг. 12), что связано с защитными свойствами масла от солнечной радиации и высыхания, а также повышения адгезионных свойств. Полученные результаты полностью коррелируются с ранее проведенными испытаниями (Крюков В.Ю., Леднев Г.Р., Левченко М.В., Ярославцева О.Н., Макаров Е.Н., Баймагамбетов Е.Ж., Дуйсембеков Б.А., Глухов В.В. Влияние наполнителей на биологическую эффективность
15 биомассы конидий энтомопатогенного гриба *Beauveria bassiana* против саранчовых в условиях Казахстана. Агрехимия, 2010, № 12, с. 24-28).

При использовании препаративной формы в виде суспензий микроконтейнеров никаких принципиальных отличий от экспериментов, проводимых на затененных участках, не наблюдалось. Гибель насекомых на 25 день эксперимента составила 85-
20 100% (Фиг. 12), что объясняется надежной защитой микроорганизма, находящегося в микроконтейнере, от солнечной радиации, высыхания и высокими адгезионными свойствами стенок контейнера, который позволяет ему зафиксироваться на теле насекомого.

2. Обработка корма

25 Обработка проводилась ручным опрыскивателем в нескольких вариантах:

- обработка непосредственно перед помещением корма в садок,
- обработка с подсушиванием корма в течение нескольких часов в естественных условиях.

30 Общие тенденции по сравнению с нанесением микоинсектицида непосредственно на насекомое - снижение на 15-20% уровня смертности.

Затененные участки

При сравнении эффективности трех препаративных форм следует отметить общую тенденцию снижения смертности насекомых на 5-10% для суспензий и до 25% для водных растворов при обработке кормов непосредственно при помещении в садок по сравнению
35 с непосредственной обработкой насекомого. В случае подсушивания корма эффективность водного раствора падает более чем в два раза и составляет не более 40-50% (Фиг. 13) по сравнению с непосредственной обработкой насекомого, что связано со скатыванием капель раствора с листьев корма и их высыханием. В случае с масляной суспензией и применением эмульсий с микроконтейнерами снижение эффективности
40 корма не столь значительно и составляет около 10% (Фиг. 13).

На открытых площадках

Эффективность первых двух препаративных форм существенно падает по сравнению с опытами на затененных участках, что, вероятней всего, связано с повышением солнечной активности и более высокой температурой, способствующих быстрому
45 пересыханию капель. Если в течение первых часов биоинсектицид не попадает с пищей внутрь насекомого или не задерживается на его теле, то его действие прекращается вследствие пересыхания. Смертность составляет 40-55% для масляных эмульсий и около 30% для водных (Фиг. 14). На суспензию с микроконтейнерами повышение температуры

и увеличения УФ-фактора столь значимых последствий не оказывает, и уровень смертности составляет 75-80% (Фиг. 14).

3. Обработка грунта

Для проведения опытов была использована следующая методика:

- 5 - непосредственная обработка перед помещением насекомых,
- обработка грунта, выдержка в течение 36 часов на площадке с последующим заселением садков саранчой.

Обработка грунта биоинсектицидом подразумевает в первую очередь контактный способ распространения инфекции. Поэтому особо важен срок эффективного действия 10 препарата.

Непосредственная обработка перед заселением насекомыми

Водный раствор сохраняет свою активность в течение нескольких часов, при этом скорость падения эффективности напрямую зависит от температуры грунта.

Максимальные значения гибели саранчовых составили порядка 30% (Фиг. 15). Масляная 15 эмульсия показала более высокие показатели смертности до 50% (Фиг. 15). Эмульсия с микроконтейнерами показала устойчивые инсектицидные свойства, и гибель саранчи составила 70-75% (Фиг. 15).

Обработка грунта с выдержкой

Обработка водным раствором - препарат практически не работает, а гибель саранчи 20 единична, эпидемиологического всплеска не наблюдается (Фиг. 16).

Масляные эмульсии на открытых площадках неэффективны из-за пересыхания раствора. На затененных участках часть раствора остается в активной форме и происходит заражение саранчи. В результате процент гибели составляет около 30-35% (Фиг. 16).

25 В случае применения эмульсии с микроконтейнерами эффективность препарата не изменяется. Это объясняется тем, что стенки микроконтейнера надежно защищают микроорганизмы от пагубных влияний негативных факторов, а жидкость, находящаяся 30 внутри микроконтейнера, позволяет благоприятно им развиваться и выходить на внешнюю поверхность микроконтейнера через заданные отверстия. В случае гибели поверхностного слоя его замещает новый высокоактивный. Процент гибели саранчовых в случае применения эмульсии с микроконтейнерами достаточно высокий и составляет 70-75% (Фиг. 16).

Выводы

35 Тестирование трех препаративных форм биоинсектицида показало, что наиболее устойчивой к неблагоприятным воздействиям окружающей среды является препаративная форма в виде эмульсии с микроконтейнерами. Данный препарат обладает длительной экспозицией, что позволяет применять его как эффективное барьерное средство для борьбы с саранчовыми. Широкий температурный диапазон и устойчивость к УФ-излучению позволяет применять его в различных климатических зонах.

40

Формула изобретения

1. Способ получения биологически-активного препарата для защиты растений от вредителей, включающий введение биологически-активной суспензии в виде спор 45 энтомопатогенных грибов и жидкой фазы в микроконтейнеры, представляющие собой пустотелые емкости, в виде оболочки из синтетического полимерного материала, по меньшей мере, с одним отверстием для введения спор, декантацию жидкой фазы и высушивание при температуре 25÷45°C микроконтейнеров вместе со спорами энтомопатогенных грибов в проточных условиях до постоянного веса.

2. Способ по п. 1, в котором в качестве энтомопатогенного гриба используют энтомопатогенный гриб, выбранный из группы, включающей *Beauveria bassiana*, *Pandora neoaphidis*, *Entomophaga maimaiga*, *Metharhizium anisopliae* var. *acridium* и *Metharhizium anisopliae* var. *anisopliae*.

5 3. Способ по п. 1, в котором энтомопатогенный гриб является энтомопатогенным грибом вида *Metharhizium anisopliae* var. *acridium*.

4. Способ по любому из пп. 1-3, в котором в микроконтейнер вводят от 1 до 100 спор грибов.

10 5. Биологически-активный препарат для защиты растений от вредителей и болезней, полученный способом по пп. 1-4.

6. Способ изготовления микроконтейнеров для осуществления способа по пп. 1-4, включающий введение в растворитель полиизоцианата, последующее перемешивание полученного раствора в водной дисперсионной среде, содержащей 0,5% поливинилового спирта в дистиллированной воде, в течение 5÷20 мин до получения микроэмульсии с
15 размером частиц, равным 5÷500 мкм, и получения микрокапсул, оболочку которых формируют посредством непрерывного введения 10% раствора полиэтиленполиамина в воде при снижении скорости перемешивания, с оболочкой из полимерного материала, представляющим собой полимочевину, и ядром из органического растворителя, представляющего собой ксилол, и нагревание микрокапсул до 300°C с перфорацией их
20 оболочки и образованием в ней отверстий под воздействием давления пара растворителя, при этом размеры отверстий регулируют соотношением компонентов полимерного материала оболочки и изменением давления пара растворителя, а соотношение растворенного в капсулированном растворе полиизоцианата и растворяемого в водной дисперсионной среде полиэтиленполиамина принимают 1:1.

25 7. Способ по п. 6, в котором толщину оболочки выбирают толщиной от 0,05 до 5 мкм.

8. Способ по п. 6, в котором размеры отверстий регулируют до диаметра, по меньшей мере, 5 мкм.

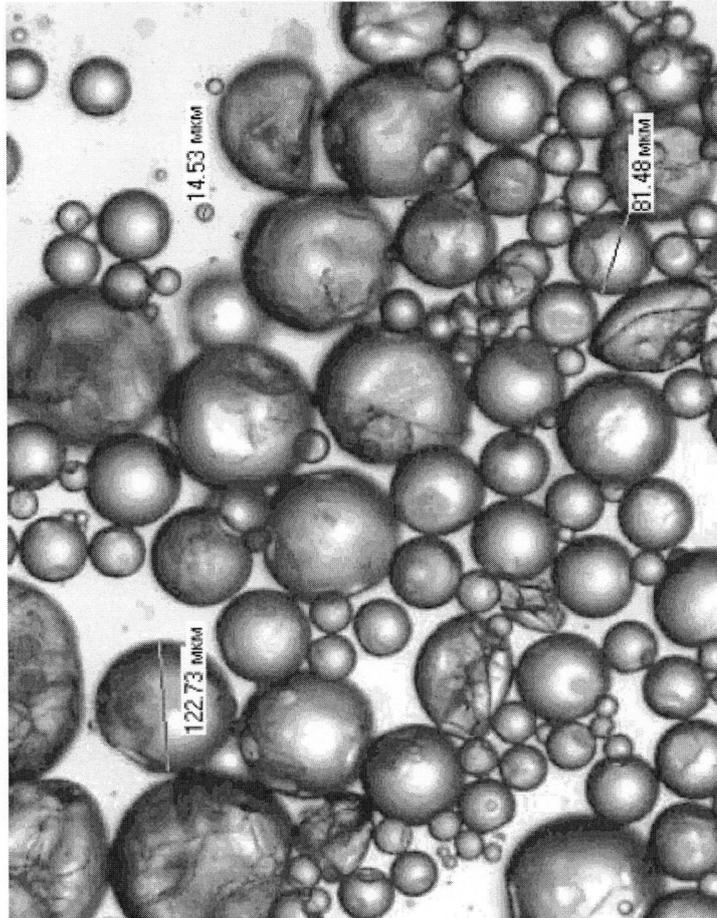
30 9. Микроконтейнер для биологически-активного препарата по п. 5, полученный способом по пп. 6-8.

10. Способ защиты растений от вредителей, включающий активацию биологически-активного препарата по п. 5 в водной среде и нанесение названного препарата на растения.

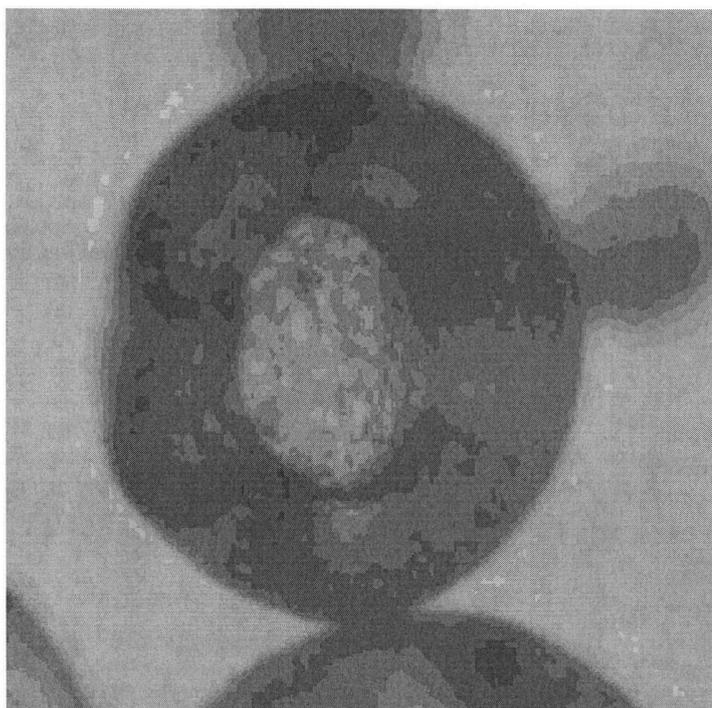
35

40

45



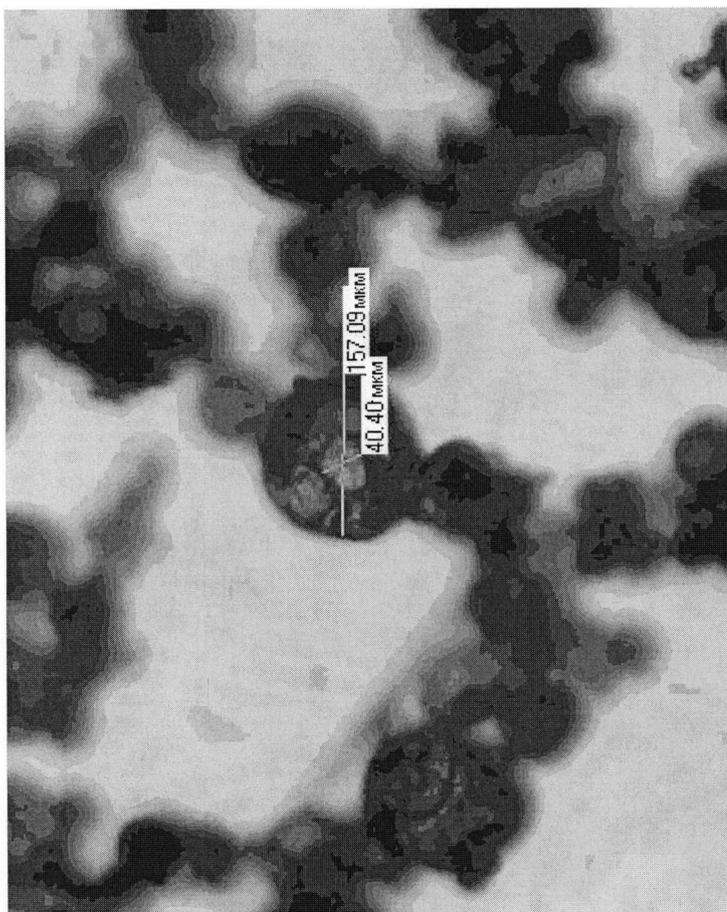
Фиг. 1



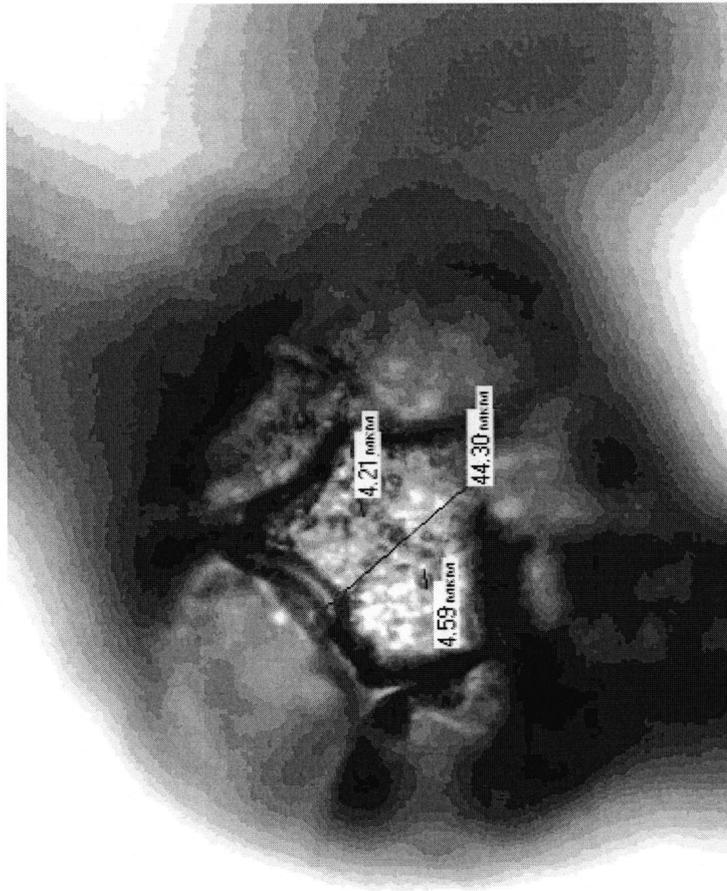
Фиг. 2



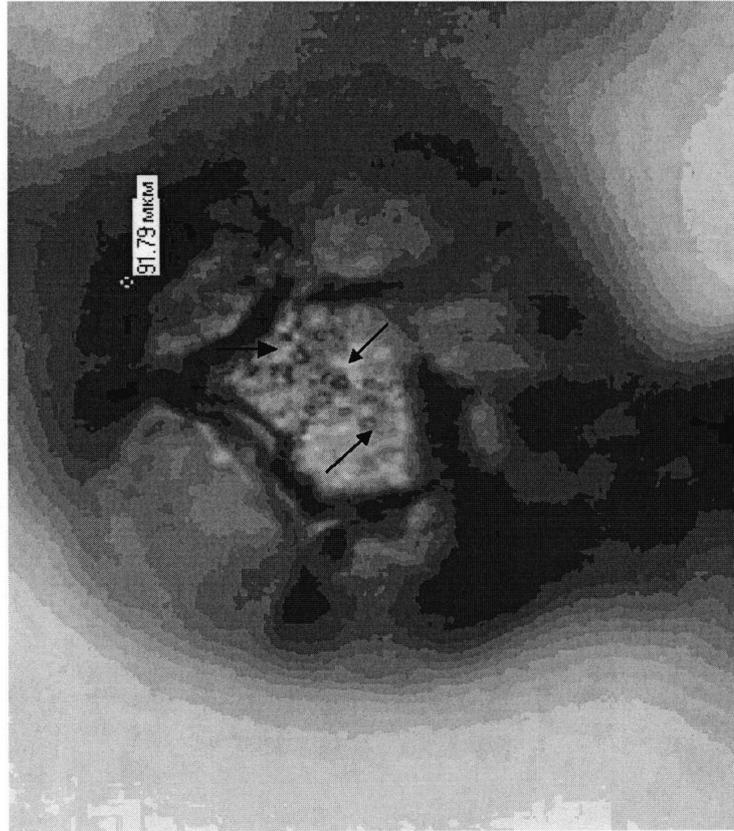
Фиг. 3



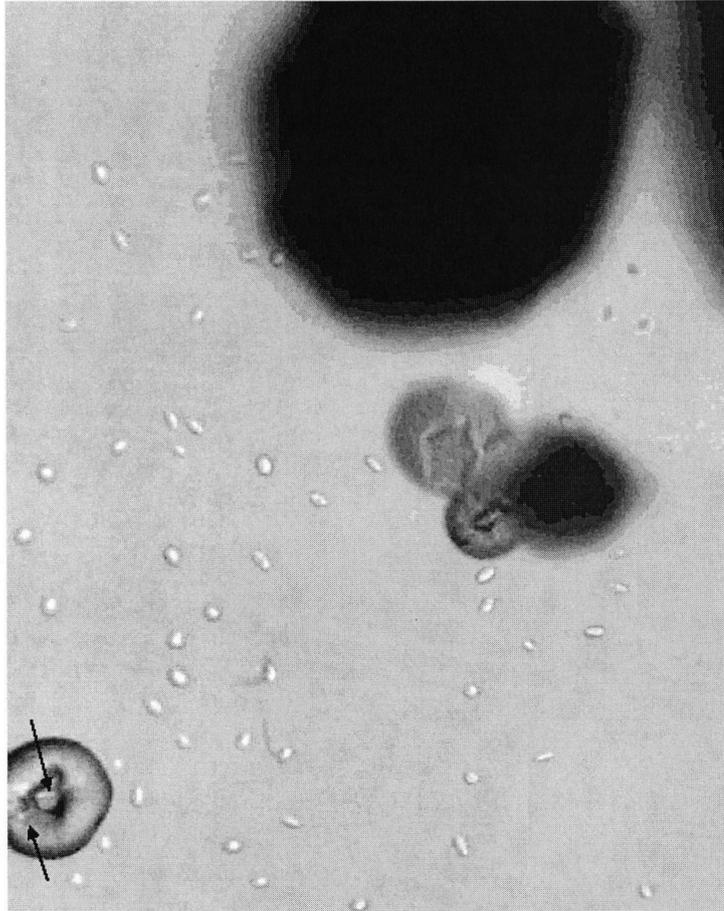
Фиг. 4



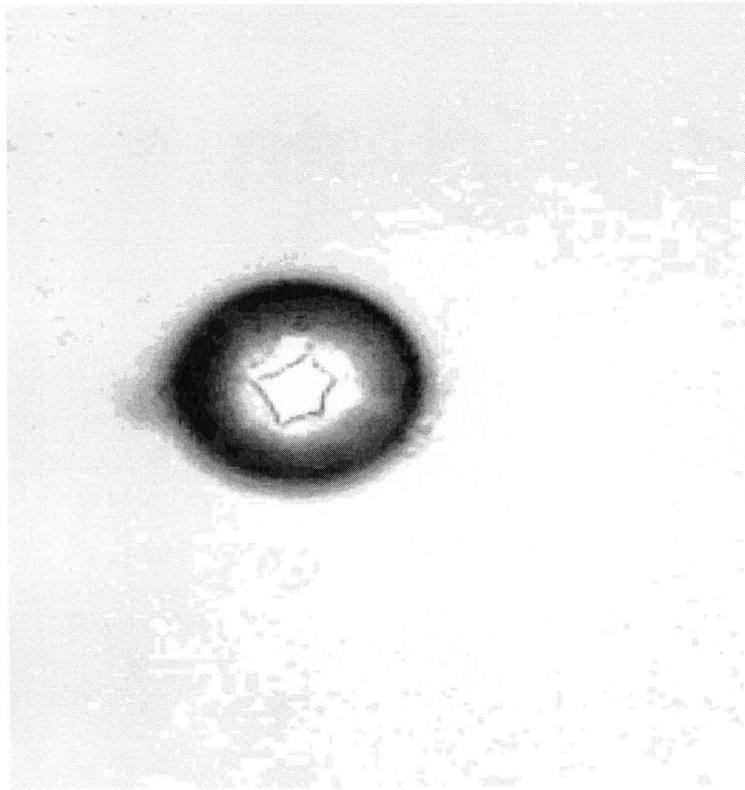
Фиг. 5



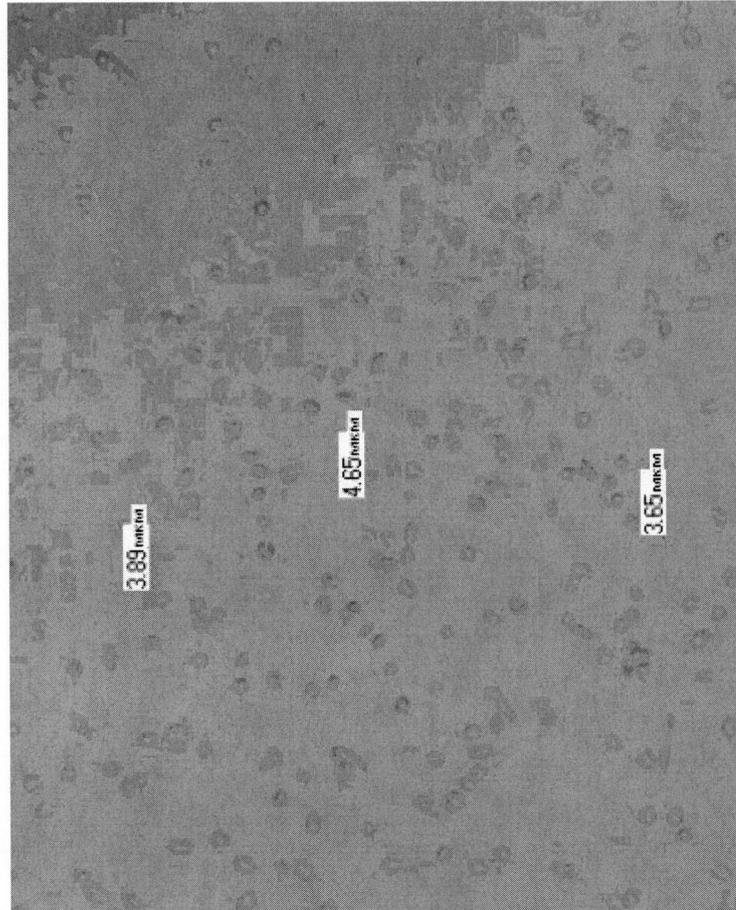
Фиг. 6



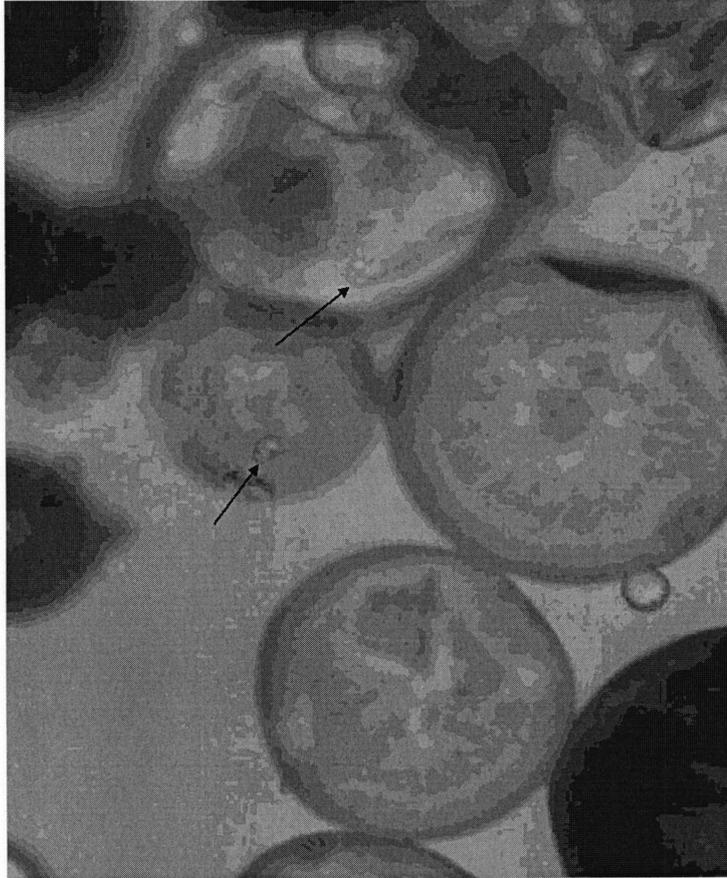
Фиг. 7



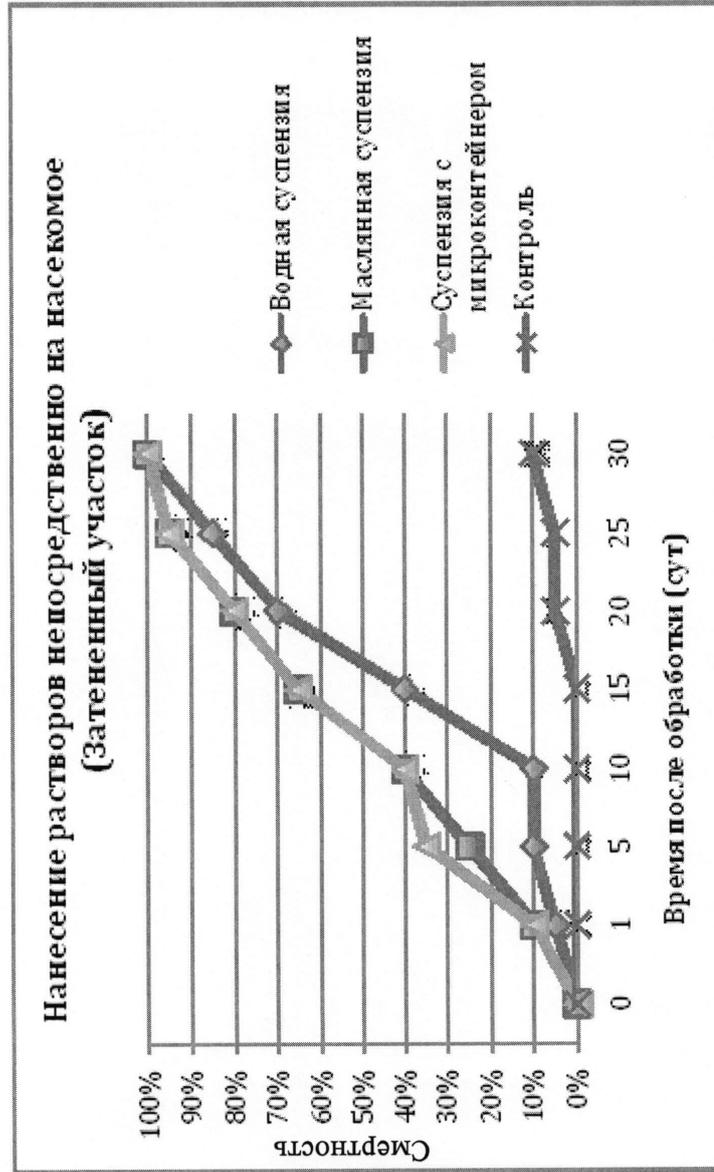
Фиг. 8



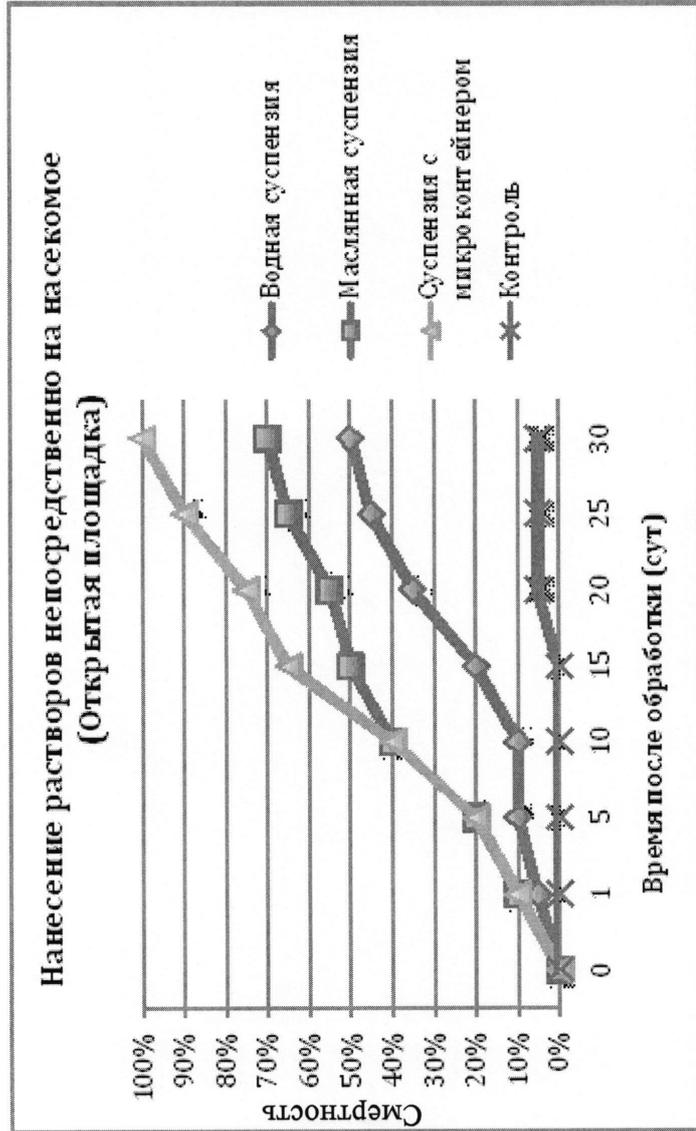
Фиг. 9



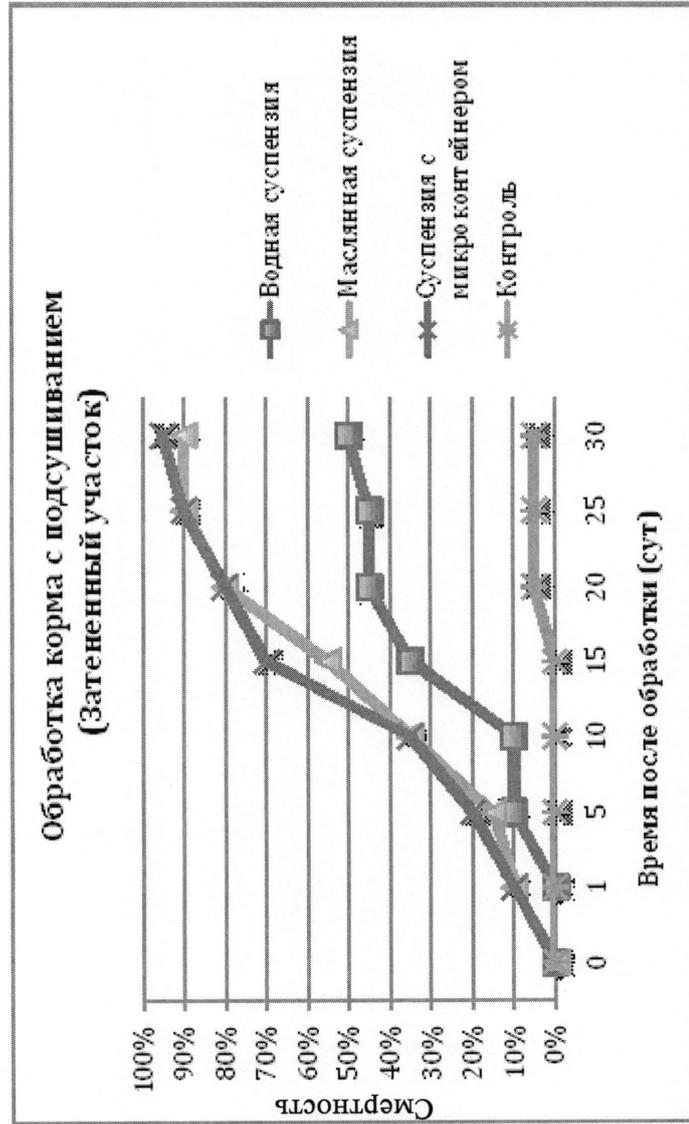
Фиг. 10



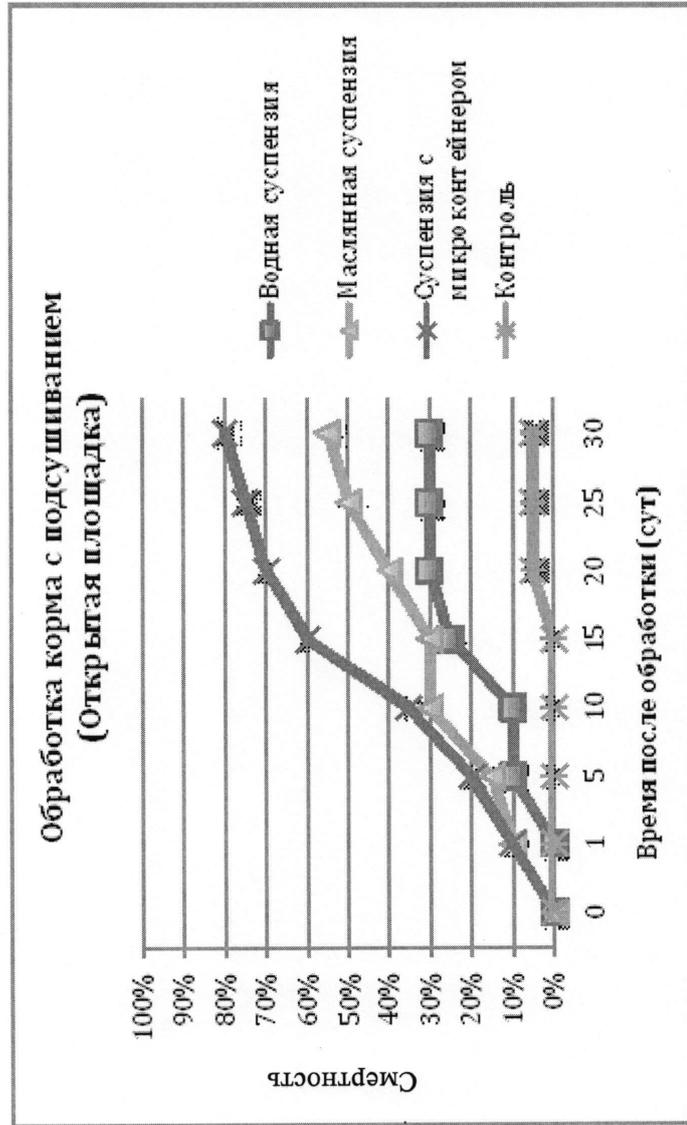
Фиг. 11



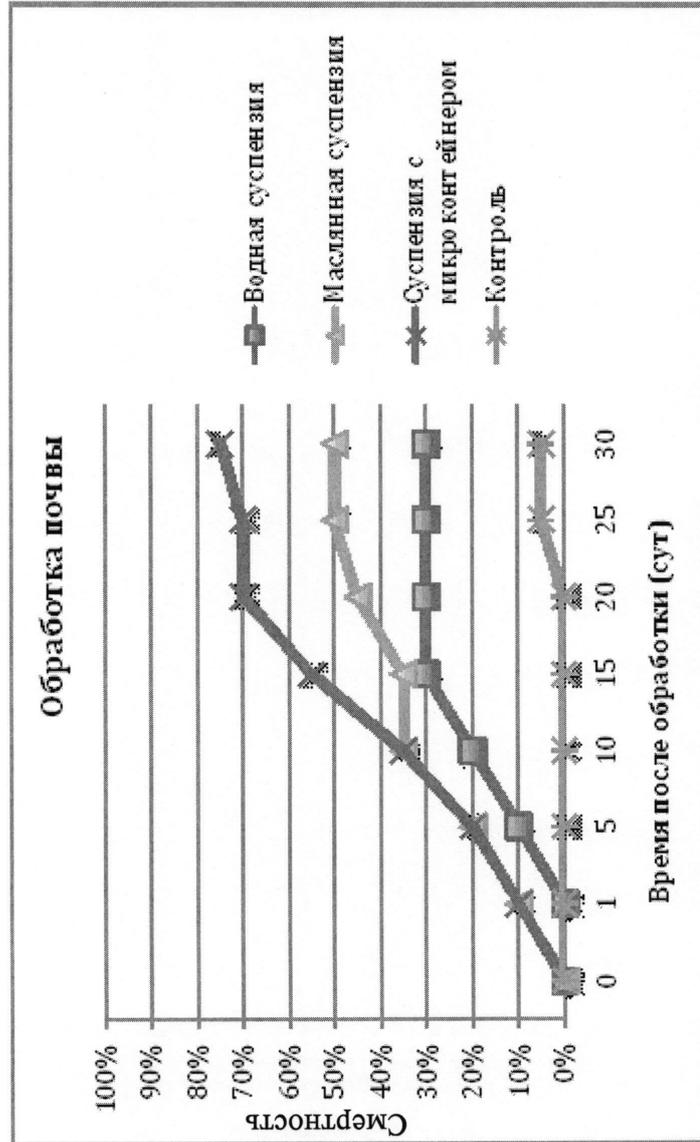
Фиг. 12



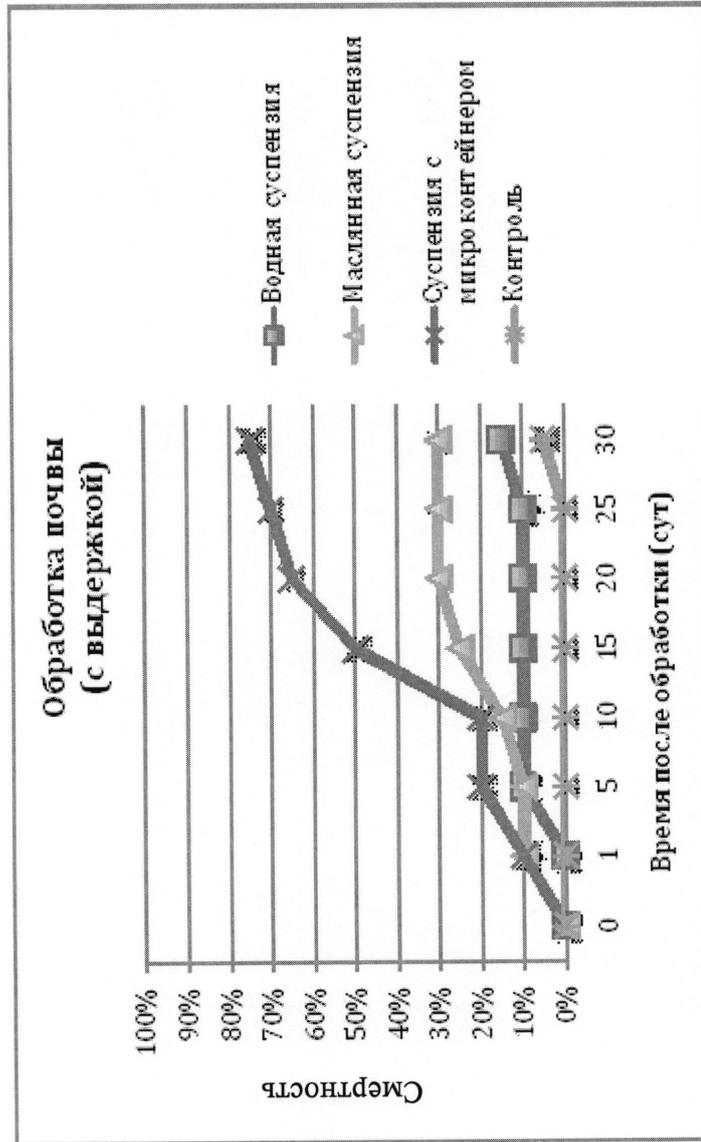
Фиг. 13



Фиг. 14



Фиг. 15



Фиг. 16