



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **118665** (13) **C2**
(51) МПК (2019.01)**A01C 1/06** (2006.01)**A01C 1/00****A01N 25/32** (2006.01)**C12N 1/04** (2006.01)МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**

(21) Номер заявки: а 2015 09317	(72) Винахідник(и): Демарес Дієго Омар (AR), Олів'єрі Флоренсія (AR), Гуткінд Габріел Освалдо (AR)
(22) Дата подання заявки: 27.03.2014	(73) Власник(и): НОВОЗІМЕС БІОАГ А/С, Krogshøjvej 36, DK-2880 Bagsvaerd, Denmark (DK), НОВОЗІМЕС БАЙОЛОДЖІКАЛЗ, ІНК., 5400 Corporate Circle, Salem, Virginia 24153, United States of America (US)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 25.02.2019	(74) Представник: Крилова Надія Іванівна, реєстр. №30
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 61/806,093	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: WO 95/17806 A1, 06.07.1995 WO 2005/077171 A1, 25.08.2005 US 4149869 A, 17.04.1979 US 5916029 A, 29.06.1999 US 2003/198696 A1, 23.10.2003 US 2008-0132411 A1, 05.06.2008 US 2011/218104 A1, 08.09.2011 US 8020343 B2, 20.09.2011 US 2012-0208699 A1, 16.08.2012
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 28.03.2013	
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: US	
(41) Публікація відомостей про заявку: 11.07.2016, Бюл.№ 13	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.02.2019, Бюл.№ 4	
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: PCT/US2014/031952, 27.03.2014	

(54) СПОСІБ ОБРОБКИ НАСІННЯ ДЛЯ ПОСИЛЕННЯ МІКРОБНОЇ СТАБІЛЬНОСТІ**(57) Реферат:**

Винахід належить до способу обробки насіння для посилення мікробної стабільності, який включає додавання лецитину в композицію для обробки насіння, що містить одну або декілька протимікробних сполук та один або декілька корисних в мікроорганізмів, причому лецитин додають в композицію для обробки насіння у кількості, достатній для інгібування протимікробної активності однієї або декількох протимікробних сполук, та лецитин додають в композицію для обробки насіння до одночасно та/або після включення однієї або декількох протимікробних сполук, та/або одного або декількох корисних в галузі сільського господарства мікроорганізмів в композицію для обробки насіння.

UA 118665 C2

ГАЛУЗЬ ВИНАХОДУ

Композиції і способи посилення стабільності мікроорганізмів, зокрема при застосуванні мікроорганізмів стосовно насіння.

ПЕРЕДУМОВИ СТВОРЕННЯ ВИНАХОДУ

Ріст рослини залежить щонайменше деякою мірою від взаємодій між рослиною і мікроорганізмами, які живуть у навколишньому ґрунті. Наприклад, симбіоз між грамнегативними ґрунтовими бактеріями, *Rhizobiaceae* і *Bradyrhizobiaceae*, і бобовими рослинами, такими як соя, є переконливо підтвердженим документальними доказами. Біохімічна основа цих взаємозв'язку передбачає обмін молекулярними сигналами, за якого сигнальні сполуки, які передаються від рослини до бактерій, включають флавоноїди, ізофлавоноїди і флаванони, а сигнальні сполуки, які передаються від бактерій до рослини, котрі включають кінцеві продукти експресії брадиризобіальних і ризобіальних *nod*-генів, відомі як ліпохітоолігосахариди (LCO). Симбіоз між цими бактеріями і бобовими дозволяє бобовим фіксувати атмосферний азот, необхідний для росту рослин, у такий спосіб усувається потреба в азотних добривах. Оскільки азотні добрива можуть призводити до значного збільшення вартості сільськогосподарських культур і пов'язані з рядом забруднювальних ефектів, у сільськогосподарській промисловості продовжуються спроби використання цього біологічного взаємозв'язку і розробки нових засобів і способів для поліпшення врожайності рослин без збільшення використання добрив на основі азоту.

Інша відома і добре вивчена симбіотична асоціація між рослинами і ґрунтовими мікроорганізмами включає арбускулярні мікоризні (AM) гриби. Ця група грибів, нещодавно перейменована *Glomeromycota*, широко поширена в царстві рослин, включаючи покритонасінні, голонасінні, птеридофіти і деякі бриофіти (Smith and Read, 2008). Серед покритонасінних щонайменше 80 % видів можуть утворювати симбіози з AM, єдиними головними винятками є *Brassicaceae* і *Chenopodiaceae*. Арбускулярні мікоризні гриби здатні до перенесення рідких або погано розчинних мінеральних поживних речовин, таких як фосфор, цинк і мідь, із ґрунту до рослини, яка у свою чергу забезпечує гриб вуглеводами. Цей обмін поживних речовин може бути життєво важливим, якщо родючість ґрунту і доступність води є низькими, - умови, які значно обмежують сільськогосподарське виробництво в більшості частин світу (Smith, et al., *Mycorrhizal symbiosis*. 787 pp., Academic Press. (2008)).

На додаток до симбіотичних взаємозв'язків з мікроорганізмами для здорового росту рослині потрібно витягати із ґрунту різні елементи, такі як фосфор і поживні мікроелементи (мідь, залізо, цинк тощо). У ґрунтах часто може не вистачати цих елементів, або в них можуть міститися форми елементів, які не можуть бути легко засвоюваними рослиною. Добрива зазвичай вносять у ґрунти для збільшення кількості фосфору, що поглинається рослиною. Однак більша частина внесеного фосфору швидко перетворюється у форми, які не можуть використовуватися рослиною. Різні штами грибів *Penicillium* (наприклад, *P. bilaiae*) і *Rhizobium* spp. вносили у ґрунт для полегшення поглинання фосфору рослиною. Див., наприклад, патенти США № 5026417 і № 5484464 і публікацію заявки на патент США № 2010/0099560.

Уживаються, безперервні зусилля для експлуатації цих типів взаємозв'язків між рослинами і мікроорганізмами з метою підвищення росту рослини і врожайності. Один із таких заходів у галузі інокулянтів з особливими зусиллями присвячений удосконаленню технологій інокулянтів, "що наносяться на насіння", і, зокрема, збільшенню виживаності інокулянтів при нанесенні їх на насіння. Одна з таких причин, що обумовлюють низьку виживаність інокулянтів, включає, серед іншого, присутність несумісних сполук, які присутні при обробках насіння. Такі сполуки можуть включати консерванти або інші біоциди, використовувані в інгредієнтах для обробки насіння.

У патенті США № 4149869 розкрито насіння, покрите сумішшю, що містить сіль казеїнат і життєздатні бактерії-ризобії.

В ЄР публікації заявки на патент США № 0454291 розкрито спосіб виробництва вдосконаленого інокулянту *Rhizobium*.

У патенті США № 5106648 розкрито спосіб нанесення покриття на насіння, однак, у розкритті стверджується, що необхідно використовувати штами *Rhizobia*, які є стійкими до фунгіцидів, що дозволяє одночасно покривати насіння фунгіцидами.

У публікації заявки на патент США № 2008/0132411 розкрито спосіб підвищення живучості і життєздатності інокулянтів мікроорганізмів, що наносяться на поверхню насіння, який передбачає стадію покриття насіння сумішшю, що містить вуглевод, цукровий спирт і мікроорганізми.

У публікації заявки на патент США № 2012/0208699 розкрито способи і композиції для зниження злипання обробленого насіння, включаючи способи підвищення виживаності будь-якого корисного мікроорганізму, включеного в композицію або її суміші, й/або способи, що підвищують врожайність рослин, що ростуть із насіння, до яких застосовується обробка.

У публікації заявки на патент США № WO 1994/06732 розкрито спосіб одержання складу інокулянту у вигляді порошку, що здатний до змочування, для застосування до бобових культур.

У публікації заявки на патент США № WO 2006/071369 розкрито спосіб одержання рідкого інокулянту, що містить засіб, що висушує, де спосіб може підвищувати виживання і стабільність бактерій у рідких інокулянтах в упакованні і при нанесенні на насіння.

Dey, B.P., Engley Jr., F. B., (1994). Neutralization of antimicrobial chemicals by recovery media. J. Microbiol. Methods. 19: 51-58 (розкрита можливість нейтралізації різних протимікробних засобів із застосуванням промивного середовища для виділення штаму ATCC 6532 *Staphylococcus aureus* із дренажних поверхонь, підданих дії комерційного фенолу і сполуки четвертинного амонію).

Проте, зберігається потреба в композиціях і способах, які можуть підвищити виживаність мікроорганізмів в умовах, коли сполуки, які не є сумісними з інокулянтами на основі мікробів, застосовуються як частина обробки насіння.

КОРОТКИЙ ОПИС ВИНАХОДУ

У даному документі описані композиції, які підвищують виживаність одного або декількох мікроорганізмів, що містять щонайменше одну сполуку, що включає одну або декілька сполук, що стабілізують мікроби, і щонайменше один другий інгредієнт, вибраний із груп (A) - (E), де група (A) являє собою фунгіцид, група (B) являє собою інсектицид, група (C) являє собою нематодцид, група (D) являє собою акарицид, група (E) являє собою гербіцид і група (F) являє собою добриво. В одному варіанті здійснення одна або декілька сполук, що стабілізують мікроби, можуть включати сполуку, вибрану із групи, яка складається із дріжджового екстракту, казеїнату кальцію, молока, сечовини, гематинових засобів, м'ясного екстракту, аміаку, амінокислот, солей амонію, солей тривалентного заліза, солей двовалентного заліза, глюконолактону, глутатіону, лецитину, полісорбатів, альбуміну, пептонів (наприклад, соєвих пептонів) і їхніх комбінацій.

В іншому варіанті здійснення композиція містить один або декілька корисних з сільськогосподарської точки зору інгредієнтів, таких як один або декілька біологічно активних інгредієнтів. Біологічно активні інгредієнти можуть включати одну або декілька сигнальних молекул рослини або один або декілька корисних мікроорганізмів. У конкретному варіанті здійснення один або декілька біологічно активних інгредієнтів можуть включати один або декілька ліпохітоолігосахаридів (LCO), один або декілька хітоолігосахаридів (CO), одну або декілька хітинових сполук, один або декілька флавоноїдів, один або декілька нефлавоноїдних індукторів pod-гена та їхніх похідних, один або декілька карикінів і їхніх похідних або будь-яку їхню комбінацію сигнальних молекул. В іншому варіанті здійснення один або декілька корисних мікроорганізмів

Далі в даному документі описаний спосіб підвищення виживаності одного або декількох мікроорганізмів. В одному варіанті здійснення спосіб підвищення виживаності одного або декількох мікроорганізмів передбачає додавання в композицію для обробки насіння однієї або декількох сполук, які стабілізують мікроби, що інгібують протимікробну активність однієї або декількох протимікробних сполук і додавання одного або декількох мікроорганізмів у композицію для обробки насіння. В одному варіанті здійснення одна або декілька сполук, що стабілізують мікроби, можуть включати дріжджовий екстракт, казеїнат кальцію, молоко, сечовину, гематинові засоби, м'ясний екстракт, аміак, амінокислоти, солі амонію, солі тривалентного заліза, солі двовалентного заліза, глюконолактон, глутатіон, лецитин, полісорбати, альбумін, пептони і їхні комбінації. В іншому варіанті здійснення одна або декілька протимікробних сполук можуть включати бактеріостат, бактерицид або їхню комбінацію.

Нарешті, спосіб нанесення покриття на насіння описано у даному документі. В одному варіанті здійснення спосіб передбачає додавання в композицію для обробки насіння однієї або декількох сполук, які стабілізують мікроби, що інгібують протимікробну активність однієї або декількох сполук, що стабілізують мікроби, з додаванням одного або декількох мікроорганізмів у композицію для обробки насіння, і застосування обробки насіння стосовно насіння.

ДОКЛАДНИЙ ОПИС

Описані варіанти здійснення відносяться до композицій і способів посилення росту рослин.

Визначення

Мається на увазі, що застосовувані у даному документі форми однини також включають форми множини, якщо з контексту явно не впливає інше.

Використовуваний у даному документі термін "сполука(и), що стабілізує(ють) мікроби" означає будь-яку сполуку, здатну підтримувати й/або збільшувати життєздатність, виживаність, й/або КУО одного або декількох мікробів. Використовуваний у даному документі вираз "сполука(и), що стабілізує(ють) мікроби" додатково означає будь-яку сполуку, здатну запобігати

й/або знижувати кількість смертей і/або рівень смертності одного або декількох мікробів.

Використовуваний у даному документі термін "молочний субстрат" означає молоко тварини, а також компоненти молока (наприклад, вершки) і комбінації молока і вершків (наприклад, половина на половину). Використовуваний у даному документі термін "молоко" означає незбиране молоко, яке продукується тваринами, а також його оброблені форми. Насправді будь-яка придатна форма молока застосовується в даних варіантах здійснення, включаючи молоко, яке включає або не включає сироватку, а також незбиране молоко, сире молоко, знежирене молоко, згущене молоко, відновлене молоко, концентроване молоко, пастеризоване молоко, непастеризований, гомогенізований, негомогенізований або регідратований молочний порошок.

Використовуваний у даному документі термін "сечовина" означає органічну сполуку з хімічною формулою NH_2CONH_2 , а також її ізомери, солі, сольвати і похідні.

Використовуваний у даному документі термін "амінокислота" означає природні і синтетичні амінокислоти, а також амінокислотні аналоги й амінокислотні міметики, які функціонують подібно до природних амінокислот. Природними амінокислотами є такі, які кодуються генетичним кодом, а також ті амінокислоти, які після зазнають модифікації, наприклад, гідроксипролін, γ -карбоксиглутамат і О-фосфосерин. Амінокислота також відноситься до полі(амінокислоти), такої як пептиди, поліпептид і білки.

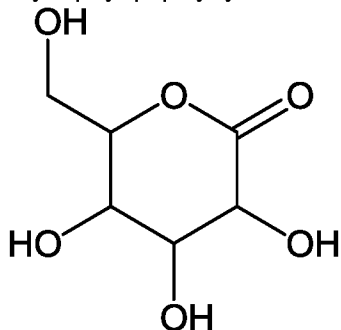
Термін "амінокислотні аналоги" означає сполуки, які характеризуються такою ж основною хімічною структурою, що й природні амінокислоти, тобто вуглець, який зв'язаний із воднем, карбоксильною групою, аміногрупою і групою R. Приклади амінокислотних аналогів включають без обмеження гомосерин, норлейцин, метіонінсульфоксид, метіонін метилсульфоній. Такі аналоги характеризуються модифікованими групами R (наприклад, норлейцин) або модифікованими пептидними остовами, але зберігають таку ж основну хімічну структуру, як і природні амінокислоти.

"Неприродні амінокислоти" не кодуються генетичним кодом і можуть, але не обов'язково, мати таку ж основну структуру, як і природні амінокислоти. Неприродні амінокислоти включають без обмеження азетидинкарбонову кислоту, 2-аміноадипінову кислоту, 3-аміноадипінову кислоту, бета-аланін, амінопропіонову кислоту, 2-аміномасляну кислоту, 4-аміномасляну кислоту, 6-амінокапронову кислоту, 2-аміногептанову кислоту, 2-аміноізомасляну кислоту, 3-аміноізомасляну кислоту, 2-амінопімелінову кислоту, третинний бутилгліцин, 2,4-діаміноізомасляну кислоту, десмозин, 2,2'-діамінопімелінову кислоту, 2,3-діамінопропіонову кислоту, N-етилгліцин, N-етиласпарагін, гомопрролін, гідроксилізін, алло-гідроксилізін, 3-гідроксипролін, 4-гідроксипролін, ізодесмозин, алло-ізолейцин, N-метилаланін, N-метилгліцин, N-метилізолейцин, N-метилпентилгліцин, N-метилвалін, нафталанін, норвалін, орнітин, пентилгліцин, піпекілінову кислоту і тіопролін.

Термін "амінокислотні міметики" означає хімічні сполуки, які характеризуються структурою, відмінною від загальної хімічної структури амінокислоти, але які функціонують аналогічно природним амінокислотам.

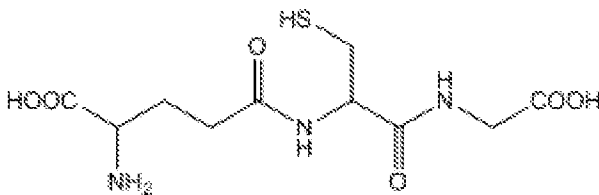
Амінокислоти можуть позначатися в даному документі або загальновідомими трибуквеними символами, або за допомогою однобуквеного символу, рекомендованого Комісією з біохімічної номенклатури IUPAC-IUB. Нуклеотиди, подібним чином, можуть позначатися їх загальноприйнятими однобуквеними кодами.

Використовуваний у даному документі термін "глюконолактон" означає молекули, які мають молекулярну формулу $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_6$, молярну масу приблизно 178,14 г/моль і структуру,



і включає їхні ізомери, солі і сольвати.

Використовуваний у даному документі термін "глутатіон" означає молекули, які мають молекулярну формулу $\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_6\text{S}$, молярну масу приблизно 307,32 г/моль і структуру,



і включає їхні ізомери, солі і сольвати.

Використовуваний у даному документі термін "лецитин" означає суміш фосфатидів. Термін лецитин, використовуваний у даному документі без модифікації прикметника, може відноситись до кожної з або до обох ацилованої і неацилованої форм лецитину.

Використовуваний у даному документі термін "полісорбат" означає олеатні естери сорбіту й ангідриди сорбіту, зазвичай співполімеризовані з етиленоксидом.

Використовуваний у даному документі термін "альбумін" є взаємозамінним з терміном "сироватковий альбумін" і не призначений для визначення джерела альбуміну. Термін "альбумін", використовуваний у даному документі, включає будь-які похідні альбуміну або модифіковані версії альбуміну. Таким чином, термін "альбумін", використовуваний у даному документі, може відноситись або до альбуміну, виділеного з натурального джерела, такого як кров або серозні рідини, або він може відноситись до хімічно синтезованого або рекомбінантно продукованого альбуміну або варіантів альбуміну, або похідних нативних альбумінів.

Використовуваний у даному документі термін "стабільний" є терміном, який відомий з рівня техніки, і в одному аспекті "стабільний" означає здатність мікроорганізму залишатися в життєздатній формі до застосування, як розкрито у даному документі (наприклад, до рослини й/або частини рослини, для посилення росту рослини й/або частини рослини, посилення проростання насіння, посилення схожості проростків, поліпшення фіксації азоту, поліпшення солюбілізації фосфату тощо).

Використовуваний у даному документі термін "корисний(і) із сільськогосподарської точки зору інгредієнт(и)" означає будь-який засіб або комбінацію засобів, здатних викликати або забезпечувати корисний і/або застосовний ефект у сільському господарстві.

Використовуваний у даному документі вираз "біологічно активний(і) інгредієнт(и)" означає біологічно активні інгредієнти (наприклад, сигнальні молекули рослини, інші мікроорганізми тощо), відмінні від сполук, що стабілізують бактерії, описаних у даному документі.

Використовувані в даному документі терміни "сигнальна(і) молекула(и)" або "сигнальна(і) молекула(и) рослини", які можуть використовуватись як взаємозамінні з виразом "засіб(и), що підсилює(ють) ріст рослини", у широкому сенсі означають будь-який засіб, що зустрічається у природі і у рослин, і у мікробів, і синтетичний (і який може бути неприродним), який прямо або опосередковано активує або інактивує біохімічний шлях рослини, що приведе до підвищення або посилення росту рослини в порівнянні з необробленими рослинами або рослинами, отриманими з необробленого насіння.

Використовувані в даному документі терміни "ефективна кількість", "ефективна концентрація" або "ефективна доза" означають кількість, концентрацію або дозу однієї або декількох сполук, що стабілізують мікроби, достатню для інгібування протимікробної активності однієї або декількох сполук. Фактична ефективна доза в абсолютному значенні залежить від факторів, що включають без обмеження кількість (наприклад, концентрацію, об'єм протимікробної сполуки тощо) протимікробної сполуки для інгібування, синергічних або антагоністичних взаємодій між іншими активними або інертними інгредієнтами, які можуть підвищувати або знижувати протимікробні інгібувальні ефекти/протимікробну активність однієї або декількох сполук, що стабілізують мікроби, і стабільність однієї або декількох сполук, що стабілізують мікроби, у композиціях і/або в якості обробок рослини або частини рослини. "Ефективну кількість", "ефективну концентрацію" або "ефективну дозу" однієї або кількох сполук, що стабілізують мікроби, можна визначити, наприклад, за допомогою звичайного експерименту доза-ефект.

Використовуваний у даному документі термін "носії" означає "агрономічно прийнятний носій". "Агрономічно прийнятний носій" означає будь-який матеріал, який можна застосовувати для доставки активних речовин (наприклад сполук, що стабілізують мікроби, описаних у даному документі, корисного(их) з сільськогосподарської точки зору інгредієнту(ів), біологічно активного(их) інгредієнту(ів) тощо) до рослини або частини рослини (наприклад, насіння), і переважно цей носій можна застосовувати (до рослини, частини рослини (наприклад, насіння) або ґрунту) без негативного впливу на ріст рослини, структуру ґрунту, ґрунтовий дренаж або подібне.

Використовуваний у даному документі термін "поживна(і) речовина(и)" означає будь-яку поживну речовину (наприклад, вітаміни, макроелементи, поживні мікроелементи, мікроелементи, органічні кислоти тощо), необхідну для росту рослини, здоров'я рослини й/або розвитку рослини.

5 Використовуваний у даному документі термін "біостимулятор(и)" означає будь-який засіб або комбінацію засобів, здатних поліпшувати метаболічні або фізіологічні процеси в рослинах і ґрунтах.

Використовуваний у даному документі термін "гербіцид(и)" означає будь-який засіб або комбінацію засобів, здатних знищувати бур'яни й/або інгібувати ріст бур'янів (інгібування за певних умов є оборотним).

Використовуваний у даному документі термін "фунгіцид(и)" означає будь-який засіб або комбінацію засобів, здатних знищувати гриби й/або інгібувати ріст грибів.

Використовуваний у даному документі термін "інсектицид(и)" означає будь-який засіб або комбінацію засобів, здатних знищувати одну або декілька комах і/або інгібувати ріст однієї або 15 декількох комах.

Використовуваний у даному документі термін "нематоцид(и)" означає будь-який засіб або комбінацію засобів, здатних знищувати одну або декілька нематод і/або інгібувати ріст однієї або декількох нематод.

Використовуваний у даному документі термін "акарицид(и)" означає будь-який засіб або комбінацію засобів, здатних знищувати одну або декілька акарид і/або інгібувати ріст однієї або 20 декількох акарид.

Використовуваний у даному документі термін "посилений ріст рослини" означає підвищену врожайність рослини (наприклад, збільшення біомаси, збільшення кількості плодів, збільшення кількості насінних коробочок або їхню комбінацію, які можна вимірювати в бушелях на акр), збільшення кількості коріння, збільшення маси коріння, збільшення кореневого обсягу, збільшення площі листа, підвищення густоти стояння рослин, підвищення потужності рослини, прискорену схожість проростків (тобто посилену схожість), прискорене проростання, (тобто посилене проростання) або їхні комбінації.

Використовувані в даному документі терміни "рослина(и)" і "частина(и) рослини(н)" означають усі рослини і популяції рослин, такі як бажані і небажані дикі рослини або культурні рослини (включаючи природні культурні рослини). Культурні рослини можуть бути рослинами, які можуть бути отримані традиційною селекцією рослин і способами оптимізації, або способами біотехнології і генної інженерії, або комбінацією цих способів, включаючи трансгенні рослини і включаючи сорти рослин, які охороняються або не охороняються правами селекціонерів. Під 25 частинами рослини слід розуміти всі частини і органи рослин над і під землею, такі як пагін, лист, квітка і корінь, у якості прикладів яких можуть бути згадані листи, голки, стеблини, стовбури, квіти, плоди, фрукти, насіння, коріння, бульби і кореневища. Також частини рослини включають зібраний матеріал, вегетативний і генеративний матеріал для розмноження (наприклад, черешки, бульби, кореневища, відростки, насіння тощо).

Використовуваний у даному документі термін "інокулюм" означає будь-яку форму мікробних клітин або спори, які здатні до поширення на або у ґрунті, коли умови температури, вологості тощо є придатними для росту мікробів.

Використовуваний у даному документі термін "азотфіксувальний(і) організм(и)" означає будь-який організм, здатний перетворювати атмосферний азот (N_2) в аміак (NH_3).

Використовуваний у даному документі термін "фосфатсолубілізуювальний організм" означає будь-який організм, здатний перетворювати нерозчинний фосфат у розчинну форму фосфату.

Використовуваний у даному документі термін "спора" має своє звичайне значення, яке добре відоме і зрозуміле фахівцям у даній галузі. Використовуваний у даному документі термін "спора" означає мікроорганізм у його стані спокою, захищеному стані.

Використовуваний у даному документі термін "джерело" конкретного елемента означає сполуку цього елемента, яка щонайменше в умовах розглянутого ґрунту не робить елемент повністю доступним для поглинання рослиною.

КОМПОЗИЦІЇ

Розкриті композиції містять одну або декілька сполук, що стабілізують мікроби, описаних у 55 даному документі. У деяких варіантах здійснення композиція може бути у вигляді рідини, гелю, зависі, твердої речовини або порошку (порошку, що змочується або сухого порошку).

У конкретному варіанті здійснення одна або декілька сполук, що стабілізують мікроби, є сполуками, здатними інгібувати одну або декілька протимікробних сполук.

Використовуваний у даному документі термін "протимікробна(і) сполука(и)" включає біоцид 60 (тобто бактеріостати або бактеріциди). Необмежувальні приклади біоцидів включають

представлені нижче.

Бактерициди

Використовуваний у даному документі "бактерицид" є засобом, який знищує бактерії. Бактерицид може бути дезінфекційним засобом, антисептичним засобом або антибіотиком.

- 5 Необмежувальними прикладами бактерицидних дезінфекційних засобів можуть бути:
- активний хлор (тобто, гіпохлорити, хлораміни, дихлорізоціанурат і трихлорізоціанурат, мокрий хлор, діоксид хлору тощо),
 - активний кисень (пероксида, такі як пероцтова кислота, персульфат калію, перборат натрію, перкарбонат натрію і пергідрат сечовини),
 - 10 йод (йодповідон (повідон-йод, бетадин)), розчин Люголя, настій йоду, йодовані неіоногенні поверхнево-активні речовини),
 - концентровані спирти (головним чином етанол, 1-пропанол, що називають також н-пропанолом, і 2-пропанол, що називають ізопропанолом, і їхні суміші; додатково 2-феноксіпропанол і 1- і 2-феноксіпропанол),
 - 15 фенольні речовини (такі, як фенол (що також називають "карболовою кислотою"), крезолі (що також називають "лізолом" у комбінації з рідкими калієвими милами), галогеновані (хлоровані, бромовані) феноли, такі як гексахлорофен, триклозан, трихлорфенол, трибромфенол, пентахлорфенол, дибромол і їхні солі),
 - катіонні поверхнево-активні речовини, такі як деякі катіони четвертинного амонію (такі як
 - 20 бензалконій хлорид, бромід або хлорид цетилтриметиламонію, хлорид дидецилдиметиламонію, хлорид цетилпіридинію, хлорид бензетонію) і інші нечетвертинні сполуки, такі як хлоргексидин, глюкопротамін, октенідин дигідрохлорид тощо,
 - сильні окисники, такі як озон і розчини перманганату;
 - важкі метали і їхні солі, такі як колоїдне срібло, нітрат срібла, хлорид ртуті, солі фенілртуті,
 - 25 сульфат міді, оксид-хлорид міді тощо. Важкі метали і їхні солі є найбільш токсичними і небезпечними для навколишнього середовища бактерицидами, і, таким чином, їх застосування сильно обмежене або виключене; крім того, також
 - належним чином концентровані сильні кислоти (фосфорна, азотна, сірчана, амідосірчана, толуолсульфонова кислоти) і
 - 30 луги (гідроксиди натрію, калію, кальцію) з рН <1 або >13, особливо при підвищеній температурі (вище 60 °C), які знищують бактерії.
 - Необмежувальними прикладами бактерицидного антисептичного засобу можуть бути:
 - належним чином розведені хлорні препарати (наприклад, розчин Дакіна, 0,5 % розчин гіпохлориту натрію або калію, 0,5-1 % розчин бензолсульфохлораміду натрію з рН, доведеним
 - 35 до рН 7-8 (хлорамін В)),
 - деякі йодні препарати, такі як йодоповідон у різних галогенових препаратах (мазь, розчини, пластирі для ран), у минулому також розчин Люголя,
 - пероксида, такі як розчини пергідрату сечовини і забуферені розчини пероцтової кислоти з рН 0,1-0,25 %,
 - 40 спирти з добавками антисептичних засобів, використовувані в основному для знезараження шкіри,
 - слабкі органічні кислоти, такі як сорбінова кислота, бензойна кислота, молочна кислота і саліцилова кислота,
 - деякі фенольні сполуки, такі як гексахлорофен, триклозан і дибромол, і
 - 45 катіоноактивні сполуки, такі як 0,05-0,5 % бензалконій, 0,5-4 % хлоргексидин, 0,1-2 % розчини октенідину.
 - Необмежувальними прикладами бактерицидного антибіотика можуть бути пеніцилін, цефалоспорины й аміноглікозидні антибіотики.
 - Інші бактерицидні антибіотики включають фторхінолони, нітрофурані, ванкоміцин,
 - 50 монобактами, котримоксазол і метронідазол.
 - Переважають бактерициди:
 - сполуки, що містять галоген, такі як
 - бронопол - активний 2-бром-2-нітро-1,3-пропандіол,
 - Dowicil 75 - активний 1-(3-хлораліл)-3,5,7-триаза-1-азоніадамонтанхлорид,
 - 55 DBNPA - активний дибромнітрилопропіонамід;
 - органічні сполуки сірки, включаючи ізотіазолони, такі як
 - Proxel (Nipacide) - активний 1,2-бензізотіазолін-3-он,
 - Kathon - активний 5-хлор-2-метил-4-ізотіазолін-3-он, 2-метил-4-ізотіазолін-3-он;
 - азотовмісні сполуки, такі як
 - 60 Germall II (діазолідиніл сечовина),

трис нітро (трис(гідроксиметил)нітрометан);
 фенольні смоли, такі як
 Dowicide (о-фенілфенат натрію),
 Preventol D2® (бензилгеміформаль);

- 5 неорганічні речовини, такі як
 арсенати міді,
 оксид міді;
 металоорганічні сполуки, такі як
 сполуки арсену, міді, ртуті;
 10 сполуки четвертинного амонію.
 Бактеріостати

Використовуваний у даному документі "бактеріостат" являє собою засіб, зазвичай хімічний, який запобігає росту бактерій, але не обов'язково знищує їх або їхні спори. Після видалення бактеріостату бактерії зазвичай починають рости знову.

- 15 Необмежувальні приклади бактеріостатів включають азид натрію і тимеросол.
 Сполуки, що стабілізують мікроби

- Описані в даному документі сполуки, що стабілізують мікроби, можуть включати будь-яку сполуку, здатну збільшувати виживаність одного або декількох мікроорганізмів. В одному варіанті здійснення одна або декілька сполук, що стабілізують мікроби, інгібують активність
 20 одного або декількох біоцидів, описаних у даному документі. В іншому варіанті здійснення одна або декілька сполук, що стабілізують мікроби, інгібують активність одного або декількох бактерицидів, розкритих у даному документі. У ще одному варіанті здійснення одна або декілька сполук, що стабілізують мікроби, інгібують активність одного або декількох бактеріостатів, розкритих у даному документі. У ще одному варіанті здійснення одна або декілька сполук, що
 25 стабілізують мікроби, інгібують активність формальдегіду, бензилгеміформалю (фенілметоксиметанол), 2-бром-2-нітро-1,3-пропандіолу, 1-(3-хлораліл)-3,5,7-триаза-1-азоніадамантанхлориду, дибромнітрилопропіонамід, 1,2-бензізотіазолін-3-ону, 5-хлор-2-метил-4-ізотіазолін-3-ону, 2-метил-4-ізотіазолін-3-ону, діазолідінілу сечовини, трис(гідроксиметил)нітрометану, о-фенілфенату натрію, арсенатів міді, оксиду міді, сполук
 30 арсену, міді, ртуті, сполук четвертинного амонію, азиду натрію, тимеросолу або їхніх комбінацій.

- У ще одному варіанті здійснення сполукою, що стабілізує мікроби є дріжджовий екстракт. Дріжджові екстракти широко застосовують, наприклад, для надання смаку у харчовій промисловості, у зброджуваних мікроорганізмами середовищах і в якості дієтичних харчових продуктів. Одержання дріжджового екстракту описане в літературі, див., наприклад, Kelly, M.
 35 (1982) Yeast Extract (In: Industrial Enzymology, Godfrey, T. ed.) або Chae, H. J. et al. (2001), Bioresource Technology 76, 253-258. Зазвичай його виготовляють шляхом розкладання дріжджів за допомогою кислотного гідролізу або за допомогою механічного або хімічного руйнування клітин з наступним автолізом ендогенними ферментами для розпаду макромолекулярних структур дріжджів, зокрема білків, до максимальної кількості розчинного матеріалу. Якщо
 40 можливо, додають екзогенні ферменти, включаючи протеази, такі як папаїн, для посилення ефекту власних ферментів дріжджів. Після ферментативного гідролізу дріжджовий екстракт відокремлюють від клітинного дебрису і, якщо можливо, пастеризують і концентрують.

В іншому варіанті здійснення сполукою, що стабілізує мікроби, є казеїнат кальцію.

- У ще одному варіанті здійснення сполукою, що стабілізує мікроби, є молочний субстрат. У конкретному варіанті здійснення сполукою, що стабілізує мікроби, є молоко. У дійсності передбачається, що молоко в будь-якій формі буде застосовуватись відповідно до варіантів здійснення, розкритих у даному документі. У деяких варіантах здійснення знаходять застосування вершкам, одержаним з будь-якого придатного молока.

- У ще одному варіанті здійснення сполукою, що стабілізує мікроби, є сечовина, а також її ізомери, солі, сольвати і похідні.

У ще одному варіанті здійснення сполукою, що стабілізує мікроби, є гематиновий засіб.

У ще одному варіанті здійснення сполукою, що стабілізує мікроби, є м'ясний екстракт. М'ясний екстракт добре відомий у даній галузі.

- У ще одному варіанті здійснення сполукою, що стабілізує мікроби, є аміак, а також його ізомери, солі, сольвати і похідні.

- У ще одному варіанті здійснення сполукою, що стабілізує мікроби, є амінокислота, амінокислотний аналог, неприродна амінокислота, амінокислотний міметик або їхня комбінація. Амінокислоти, визначені в даному документі, можуть позначатися або за допомогою загальновідомих трибуквених символів, або за допомогою однобуквених символів,
 60 рекомендованих Комісією з біохімічної номенклатури IUPAC-IUB. Нуклеотиди, подібним чином,

можуть позначатися їх загальноприйнятими однобуквеними кодами. У конкретному варіанті здійснення амінокислотою є триптофан.

У ще одному варіанті здійснення сполукою, що стабілізує мікроби, є одна або декілька солей амонію.

5 У ще одному варіанті здійснення сполукою, що стабілізує мікроби, є одна або декілька солей тривалентного заліза, солей двовалентного заліза або їхні комбінації.

У ще одному варіанті здійснення сполукою, що стабілізує мікроби є глюконолактон, а також його ізомери, солі і сольвати.

10 У ще одному варіанті здійснення сполукою, що стабілізує мікроби, є глутатіон, а також його ізомери, солі і сольвати.

У ще одному варіанті здійснення сполукою, що стабілізує мікроби, є лецитин. У конкретному варіанті здійснення лецитин включає суміші фосфатидів, зазвичай одержаних із яєць, риби, пивних дріжджів і рослинних джерел, особливо сої; однак, будь-яку суміш фосфатидів можна застосовувати у цьому розкритті незалежно від джерела. Чотирма основними компонентами такої суміші фосфатидів є фосфатидилхолін, фосфатидилетаноламін, фосфатидилінозитол і фосфатидна кислота. Лецитини згадувалися в деяких літературних джерелах під наступними назвами: PC-55, етаноламін і серин.

20 У ще одному варіанті здійснення сполукою, що стабілізує мікроби, є один або декілька полісорбатів. Необмежувальні приклади полісорбатів включають полісорбат 20 (полі(етиленоксид) (20) сорбітанмонолаурат, Tween 20) або полісорбат 80 (полі(етиленоксид) (80) сорбітанмонолаурат, Tween 80).

25 У ще одному варіанті здійснення сполукою, що стабілізує мікроби, є альбумін. У деяких варіантах здійснення альбуміном є альбумін ссавця, або його варіант, або похідна. Необмежувальні приклади альбумінів ссавця, які можна застосовувати, включають альбумін людини, бичачий альбумін, альбумін вівці, альбумін кози, альбумін кролика, альбумін кішки, альбумін собаки, альбумін свині, альбумін примата або альбумін гризуна.

30 У ще одному варіанті здійснення сполукою, що стабілізує мікроби, є пептон. Необмежувальні приклади включають триптичні або папаїнові пептони, які можна використовувати, що, включають триптичні пептони тваринного або рослинного походження. У конкретному варіанті здійснення розщеплений пептон одержують із соєвого борошна. В іншому варіанті здійснення пептоном є соєвий пептон (наприклад, пептони, одержані із соєвого борошна). У ще одному варіанті здійснення соєвий пептон є триптичним соєвим бульйоном.

35 У ще одному варіанті здійснення сполука, що стабілізує мікроби, вибрана із групи, яка складається із дріжджового екстракту, казеїнату кальцію, молока, сечовини, гематинових засобів, м'ясного екстракту, аміаку, амінокислот, солей амонію, солей тривалентного заліза, солей двовалентного заліза, глюконолактону, глутатіону, лецитину, полісорбатів, альбуміну, соєвих пептонів і їхніх комбінацій.

Носії

40 Композиції, описані у даному документі, можуть додатково містити один або декілька носіїв для доставки однієї або декількох активних речовин, описаних у даному документі (наприклад, сполук, що стабілізують мікроби, або корисного із сільськогосподарської точки зору інгредієнта, наприклад, корисних мікроорганізмів тощо). Необмежувальні приклади носіїв, описаних у даному документі, включають рідини, гелі, зависі або тверді речовини (у тому числі порошки, що змочуються, або сухі порошки). Вибір матеріалу носія буде залежати від передбачуваного застосування. Носій може, наприклад, бути сумісним із ґрунтом носієм, сумісним з насінням носієм і/або сумісним з некореневим внесенням носієм. У конкретному варіанті здійснення носієм є сумісний з насінням носій.

50 В одному варіанті здійснення носій являє собою рідкий носій. Необмежувальні приклади рідин, застосовуваних у якості носіїв для композицій, описаних у цьому документі, включають воду, водний розчин або неводний розчин. У конкретному варіанті здійснення носієм є вода.

55 При застосуванні рідкого носія рідкий носій може додатково включати ростове середовище для культивування одного або декількох мікробних штамів, що застосовують в описаних композиціях. Необмежувальні приклади придатного поживного середовища для мікробних штамів включають середовище YEM, середовище із дріжджовим екстрактом і манітом, середовище із дріжджовим екстрактом і гліцерином, середовище Чапека-Докса, картопляно-декстрозний бульйон або будь-яке середовище, відоме фахівцям у даній галузі, яке сумісне з і/або, забезпечує поживними речовинами для росту мікробний штам, який може бути включений у композиції, описані у даному документі.

Корисні з сільськогосподарської точки зору інгредієнти

60 Композиції, описані в даному документі, можуть містити один або декілька корисних із

сільськогосподарської точки зору інгредієнтів. Необмежувальні приклади корисних із сільськогосподарської точки зору інгредієнтів включають один або декілька біологічно активних інгредієнтів, поживних речовин, біостимуляторів, консервантів, полімерів, змочувальних засобів, поверхнево-активних речовин, гербіцидів, фунгіцидів, інсектицидів або їхніх композицій.

5 Біологічно активний(і) інгредієнт(и)

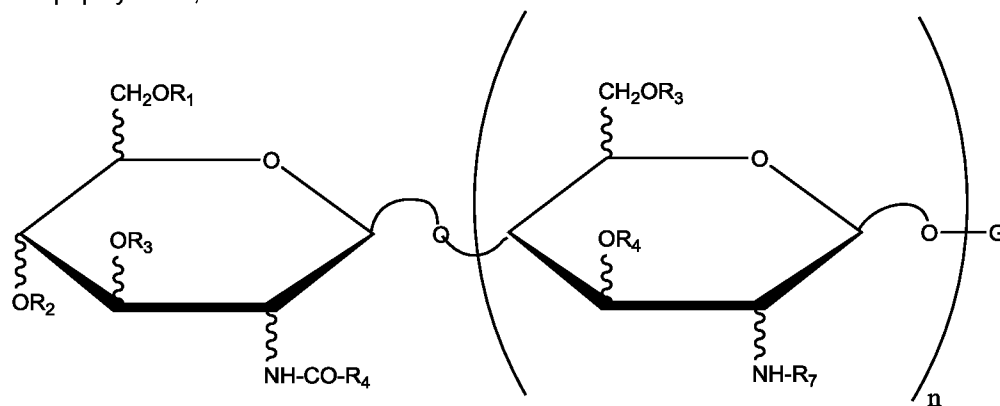
Композиції, описані в даному документі, можуть необов'язково включати один або декілька біологічно активних інгредієнтів, описаних у даному документі. Необмежувальні приклади біологічно активних інгредієнтів включають сигнальні молекули рослини (наприклад, ліпохітоолігосахариди (LCO), хітоолігосахариди (CO), флавоноїди, хітинові сполуки, жасмонову кислоту або її похідні, лінолеву кислоту або її похідні, ліноленову кислоту або її похідні, карикіни тощо) і корисні мікроорганізми (наприклад, *Rhizobium* spp., *Bradyrhizobium* spp., *Sinorhizobium* spp., *Azorhizobium* spp., *Glomus* spp., *Gigaspora* spp., *Hymenoscyphus* spp., *Oidiodendron* spp., *Laccaria* spp., *Pisolithus* spp., *Rhizopogon* spp., *Scleroderma* spp., *Rhizoctonia* spp., *Acinetobacter* spp., *Arthrobacter* spp., *Arthrobotrys* spp., *Aspergillus* spp., *Azospirillum* spp., *Bacillus* spp., *Burkholderia* spp., *Candida* spp., *Chryseomonas* spp., *Enterobacter* spp., *Eupenicillium* spp., *Exiguobacterium* spp., *Klebsiella* spp., *Kluyvera* spp., *Microbacterium* spp., *Mucor* spp., *Paecilomyces* spp., *Paenibacillus* spp., *Penicillium* spp., *Pseudomonas* spp., *Serratia* spp., *Stenotrophomonas* spp., *Streptomyces* spp., *Streptosporangium* spp., *Swaminathania* spp., *Thiobacillus* spp., *Torulospora* spp., *Vibrio* spp., *Xanthobacter* spp., *Xanthomonas* spp. тощо).

20 Сигнальна(і) молекула(и) рослини

У варіанті здійснення композиції, описані в даному документі, можуть необов'язково включати одну або декілька сигнальних молекул рослини. В одному варіанті здійснення одна або декілька сигнальних молекул рослини являють собою один або декілька LCO. В іншому варіанті здійснення одна або декілька сигнальних молекул рослини являють собою один або декілька CO. У ще одному варіанті здійснення одна або декілька сигнальних молекул рослини являють собою одну або декілька хітинових сполук. В іншому варіанті здійснення одна або декілька сигнальних молекул рослини являють собою один або декілька флавоноїдів. У ще одному варіанті здійснення одна або декілька сигнальних молекул рослини являють собою один або декілька нефлавоноїдних індукторів pod-генів (наприклад, жасмонова кислота, лінолева кислота, ліноленова кислота і їхні похідні). У ще одному варіанті здійснення одна або декілька сигнальних молекул рослини являють собою один або декілька карикінів або їхніх похідних. У ще одному варіанті здійснення одна або декілька сигнальних молекул рослини являють собою один або декілька LCO, один або декілька CO, одну або декілька хітинових сполук, один або декілька флавоноїдів, один або декілька нефлавоноїдних індукторів pod-генів і їхні похідні, один або декілька карикінів і їхні похідні або будь-яку комбінацію їхніх сигнальних молекул.

LCO

Сполуки ліпохітоолігосахаридів (LCO), також відомі з рівня техніки як симбіотичні Nod-сигнали або Nod-фактори, складаються з олігосахаридного основного ланцюга β -1,4-з'язаних залишків N-ацетил-D-глюкозаміну ("GlcNAc") з N-зв'язаним ацильним ланцюгом жирної кислоти, конденсованої на невідновлювальному кінці. LCO відрізняються за кількістю залишків GlcNAc в основному ланцюзі, за довжиною і ступенем насичення ацильного ланцюга жирної кислоти і за заміщеннями у відновлювальних і невідновлювальних залишках цукру. Мається на увазі, що LCO включають всі LCO, а також їхні ізомери, солі і сольвати. Приклад LCO представлений нижче формулою I,



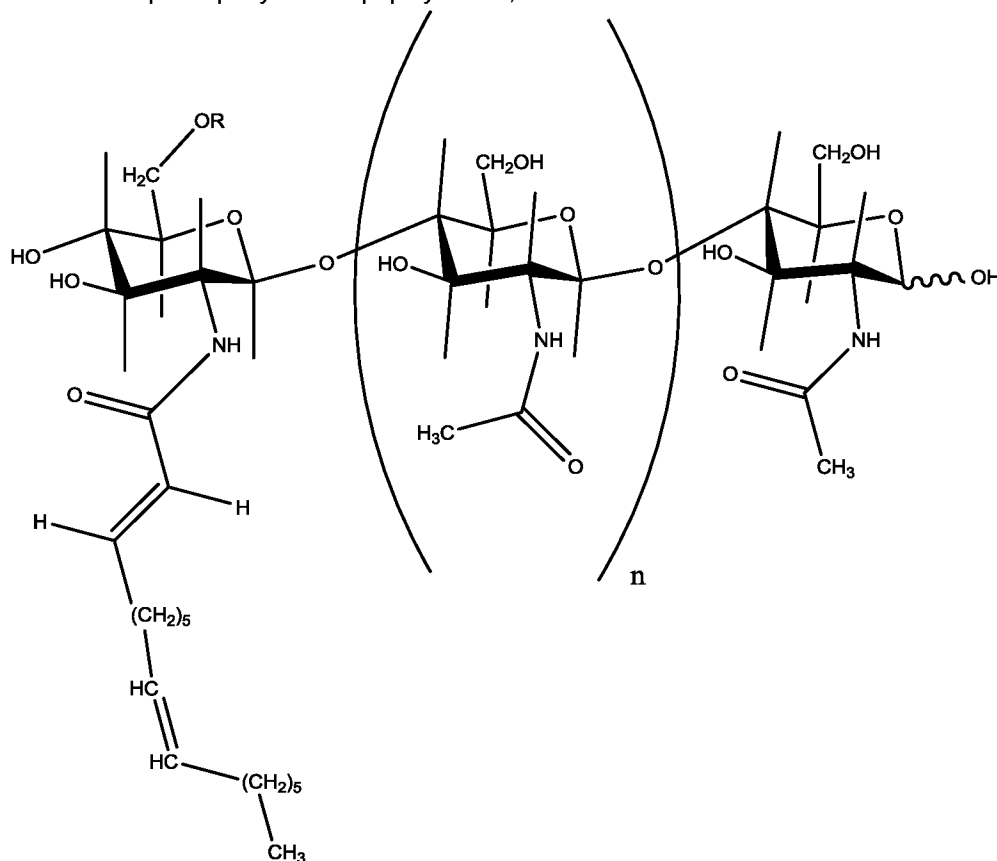
у якій

G являє собою гексозамін, який може бути заміщений, наприклад, ацетильною групою за азотом, сульфатною групою, ацетильною групою й/або ефірною групою за киснем,

R_1, R_2, R_3, R_5, R_6 і R_7 , які можуть бути ідентичними або різними, являють собою H , CH_3CO- , C_xH_yCO- , де x являє собою ціле число від 0 до 17, і y являє собою ціле число від 1 до 35, або будь-яку іншу ацильну групу, таку як, наприклад, карбаміл,

R_4 являє собою аліфатичний ланцюг з однією, двома, трьома і чотирма ненасиченими зв'язками, що містить щонайменше 12 атомів вуглецю, і n являє собою ціле число від 1 до 4.

LCO можуть бути одержані (виділені й/або очищені) з бактерій, таких як *Rhizobia*, наприклад, *Rhizobium* spp., *Bradyrhizobium* spp., *Sinorhizobium* spp. і *Azorhizobium* spp. Структура LCO є характерною для кожного такого виду бактерій, і кожний штам може продукувати кілька LCO з різними структурами. Наприклад, конкретні LCO з *S. meliloti* також були описані в патенті США № 5549718 і характеризуються формулою II,



у якій R являє собою H або CH_3CO- , і n дорівнює 2 або 3.

Ще більш конкретні LCO включають NodRM, NodRM-1, NodRM-3. При ацетилюванні ($R=CH_3CO-$) вони перетворюються на AcNodRM-1 і AcNodRM-3, відповідно (патент США № 5545718).

LCO з *Bradyrhizobium japonicum* описані в патентах США № 5175149 і № 5321011. Загалом, вони являють собою пентасхаридні фітогормони, що містять метилфукозу. Описаний ряд цих LCO, одержаних з *B. japonicum*: BjNod-V ($C_{18:1}$); BjNod-V (Ac, $C_{18:1}$), BjNod-V ($C_{16:1}$) і BjNod-V (Ac, $C_{16:0}$), при цьому "V" вказує на присутність п'яти N-ацетилглюкозамінів; "Ac" позначає ацетилювання; число після "C" вказує на число атомів вуглецю в бічному ланцюзі жирної кислоти, а число після ":" вказує на число подвійних зв'язків.

LCO, застосовувані в композиціях згідно з цим розкриттям, можуть бути одержані (тобто виділені й/або очищені) з бактеріальних штамів, які продукують LCO, таких як штамми *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium* (включаючи *B. japonicum*), *Mesorhizobium*, *Rhizobium* (включаючи *R. leguminosarum*), *Sinorhizobium* (включаючи *S. meliloti*), і бактеріальних штамів, сконструйованих за допомогою генної інженерії для продукування LCO.

Також дане розкриття охоплює композиції з використанням LCO, одержаних (тобто виділених й/або очищених) з мікоризного гриба, такого як гриби групи *Glomeriscota*, наприклад, *Glomus intraradicis*. Структури типових LCO, одержаних із цих грибів, описані в патентному документі WO 2010/049751 (LCO, описані в цих документах, також називаються "Мус-факторами").

Крім того, дане розкриття охоплює композиції, у яких застосовують синтетичні сполуки LCO, такі, як описані в WO 2005/063784, і рекомбінантні LCO, одержані за допомогою генної інженерії.

Базова структура LCO, які зустрічаються у природі, може містити модифікації або заміщення, що виявляють в LCO, які зустрічаються у природі, таких як описано у Spaink, Crit. Rev. Plant Sci. 54:257-288 (2000) і D'Haese, et al., Glycobiology 12:79R-105R (2002). Олігосахаридні молекули (CO, які описані нижче, також є придатними у якості сигнальних молекул рослин згідно з даним розкриттям) для конструювання LCO, які відносяться до попередників, також можуть бути синтезовані організмами, сконструйованими за допомогою генної інженерії, наприклад, як в Samain, et al., Carb. Res. 302:35-42 (1997); Samain, et al., J. Biotechnol. 72:33-47 (1999).

LCO можна використовувати при різних формах чистоти і можна застосовувати окремо або у формі культури LCO-продукувальних бактерій або грибів. Способи для забезпечення практично чистих LCO передбачають просте видалення мікробних клітин із суміші LCO і мікроба або продовження виділення й очищення молекул LCO за допомогою розділення фаз LCO-розчинник з наступною HPLC, як описано, наприклад, у патенті США № 5549718. Очищення може бути поліпшене за допомогою повторної HPLC, і очищені молекули LCO можна ліофілізувати для тривалого зберігання.

CO

Хітоолагосахариди (CO) відомі з рівня техніки як структури на основі N-ацетилглюкозамінів, зв'язаних β -1-4-зв'язками, визначені як олігомери хітину, а також як N-ацетилхітоолагосахариди. CO мають унікальні і різні фрагменти бічного ланцюга, які відрізняють їх від молекул хітину $[(C_8H_{13}NO_5)_n]$, № згідно CAS 1398-61-4 і молекул хітозану $[(C_5H_{11}NO_4)_n]$, № згідно CAS 9012-76-4. Далі наведена типова

Джерела інформації: у якій описані структура й одержання CO. Van der Holst, et al., Current Opinion in Structural Biology, 11:608-616 (2001); Robina, et al., Tetrahedron 58:521-530 (2002); Hanel, et al., Planta 232:787-806 (2010); Rouge, et al. Chapter 27, "The Molecular Immunology of Complex Carbohydrates" в Advances in Experimental Medicine and Biology, Springer Science; Wan, et al., Plant Cell 21:1053-69 (2009); PCT/F100/00803 (9/21/2000) і Demont-Caulet, et al., Plant Physiol. 120(1):83-92 (1999). CO можуть бути синтетичними або рекомбінантними. Способи одержання рекомбінантних CO відомі з рівня техніки. Див., наприклад, Samain, et al. (вище); Cottaz, et al., Meth. Eng. 7(4):311-7 (2005) і Samain, et al., J. Biotechnol. 72:33-47 (1999). Мається на увазі, що CO включають їхні ізомери, солі і сольвати.

Хітинові сполуки

Хітини і хітозани, які є основними компонентами клітинних стінок грибів і екзоскелетів комах і ракоподібних, також складаються із залишків GlcNAc. Хітинові сполуки включають хітин (IUPAC: N-[5-[[3-ацетиламіно-4,5-дигідрокси-6-(гідроксиметил)оксан-2-іл]метоксиметил]-2-[[5-ацетиламіно-4,6-дигідрокси-2-(гідроксиметил)оксан-3-іл]метоксиметил]-4-гідрокси-6-(гідроксиметил)оксан-3-іл]етанамід), хітозан (IUPAC: 5-аміно-6-[5-аміно-6-[5-аміно-4,6-дигідрокси-2-(гідроксиметил)оксан-3-іл]окси-4-гідрокси-2-(гідроксиметил)оксан-3-іл]окси-2-(гідроксиметил)оксан-3,4-діол) і їхні ізомери, солі і сольвати.

Ці сполуки можна одержувати комерційно, наприклад, від Sigma-Aldrich, або одержувати з комах, панцирів ракоподібних або клітинних стінок грибів. Способи одержання хітину і хітозану відомі з рівня техніки і були описані, наприклад, у патенті США № 4536207 (одержання з панцирів ракоподібних), Pochanavanich, et al., Lett. Appl. Microbiol. 35: 17-21 (2002) (одержання із клітинних стінок грибів) і в патенті США № 5965545 (одержання з панцирів крабів і гідроліз комерційного хітозану). Деацетиловані хітини і хітозани можна одержувати зі ступенем деацетилювання від менш 35 % до більш 90 %, і вони охоплюють широкий спектр молекулярної ваги, наприклад, олігомери низькомолекулярного хітозану з менше 15 кДа і олігомери хітину з 0,5-2 кДа; хітозан "практичного ступеня чистоти" з молекулярною вагою приблизно 15 кДа і високомолекулярний хітозан зі значенням ваги до 70 кДа. Композиції на основі хітину і хітозану, складені для обробки насіння, також є комерційно доступними. Комерційні продукти включають, наприклад, ELEXA® (Plant Defense Boosters, Inc.) і BEYOND™ (Agrihouse, Inc.).

Флавоноїди

Флавоноїди являють собою фенольні сполуки, що характеризуються загальною структурою із двох ароматичних кілець, з'єднаних тривуглецевим містком. Флавоноїди продукуються рослинами і характеризуються безліччю функцій, наприклад, у якості корисних сигнальних молекул і в якості захисту від комах, тварин, грибів і бактерій. Класи флавоноїдів, що включені, відомі з рівня техніки. Див. Jain, et al., J. Plant Biochem. & Biotechnol. 11:1-10 (2002); Shaw, et al., Environmental Microbiol. 11:1867-80 (2006). Флавоноїдні сполуки є комерційно доступними, наприклад, від Novozymes BioAg, Саскатун, Канада; Natland International Corp., Research Triangle Park, Північна Кароліна; MP Biomedicals, Ервайн, Каліфорнія; LC Laboratories, Вобурн, Массачусетс. Флавоноїдні сполуки можуть бути виділені з рослин або насіння, наприклад, як

описано в патентах США №№ 5702752, 5990291 і № 6146668. Флавоноїдні сполуки також можуть продукуватися організмами, сконструйованими за допомогою методик генної інженерії, такими як дріжджі, як описано в Ralston, et al., Plant Physiology 137:1375-88 (2005). Мається на увазі, що флавоноїдні сполуки включають всі флавоноїдні сполуки, а також їхні ізомери, солі і сольвати.

Один або декілька флавоноїдів можуть бути природним флавоноїдом (тобто одержаним не синтетичним шляхом), синтетичним флавоноїдом (наприклад, хімічно синтезованим флавоноїдом) або їхньою комбінацією. У конкретному варіанті здійснення композиції, описані в даному документі, містять флаванол, флавон, антоціанідин, ізофлавоноїд, неофлавоноїд і їхні комбінації, включаючи всі їхні ізомерні, сольватні, гідратні, поліморфні, кристалічні форми, некристалічні форми і варіації солей.

В одному з варіантів здійснення композиції, описані в даному документі, можуть містити один або декілька флаванолів. У ще одному варіанті здійснення композиції, описані у даному документі, можуть містити один або декілька флаванолів, вибраних із групи, яка складається з флаван-3-олів (наприклад, катехіну (C), галокатехіну (GC), катехін-3-галату (Cg), галокатехін-3-галату (GCg), епікатехінів (EC), епігалокатехінів (EGC) епікатехін-3-галату (ECg), епігалокатехіну-3-галату (EGCg) тощо), флаван-4-олів, флаван-3,4-діолів (наприклад, лейкоантоціанідину), проантоціанідинів (наприклад, включаючи димери, тример, олігомери або полімери флаванолів) і їхніх комбінацій. У ще одному варіанті здійснення композиції, описані у даному документі, можуть містити один або декілька флаванолів, вибраних із групи, яка складається із катехіну (C), галокатехіну (GC), катехін-3-галату (Cg), галокатехін-3-галату (GCg), епікатехінів (EC), епігалокатехіну (EGC) епікатехін-3-галату (ECg), епігалокатехін-3-галату (EGCg), флаван-4-олу, лейкоантоціанідину і їхніх димерів, тримерів, олігомерів або полімерів.

В іншому варіанті здійснення композиції, описані в даному документі, можуть містити один або декілька флавонів. У ще одному варіанті здійснення композиції, описані в даному документі, можуть містити один або декілька флавонів, вибраних із групи, що складається із флавонів (наприклад, лютеоліну, апігеніну, тангеритину тощо), флаванолів (наприклад, кверцетину, кверцитрину, рутину, кемпферолу, кемпферитрину, астрагаліну, флавонолозиду софори, мірицетину, фізетину, ізорамнетину, пахіподолу, рамназину тощо), флаванонів (наприклад, гесперетину, гесперидину, нарингеніну, ериодиктіолу, гомоериодиктіолу тощо) і флаванонолів (наприклад, дигідрокверцетину, дигідрокемпферолу тощо). У ще одному варіанті здійснення композиції, описані в даному документі, можуть містити один або декілька флавонів, вибраних із групи, яка складається з лютеоліну, апігеніну, тангеритину, кверцетину, кверцитрину, рутину, кемпферолу, кемпферитрину, астрагаліну, флавонолозиду софори, мірицетину, фізетину, ізорамнетину, пахіподолу, рамназину, гесперетину, гесперидину, нарингеніну, ериодиктіолу, гомоериодиктіолу, дигідрокверцетину, дигідрокемпферолу і їхніх комбінацій.

У ще одному варіанті здійснення композиції, описані у даному документі, можуть містити один або декілька антоціанідинів. У ще одному варіанті здійснення композиції, описані в даному документі, можуть містити один або декілька антоціанідинів, вибраних із групи, що складається із ціанідинів, дельфінідинів, мальвідинів, пеларгонідинів, пеонідинів, петунідинів і їхніх комбінацій.

В іншому варіанті здійснення композиції, описані в даному документі, можуть містити один або декілька ізофлавоноїдів. У ще одному варіанті здійснення композиції, описані в даному документі, містять один або декілька ізофлавоноїдів, вибраних із групи, яка складається з фітоестрогенів, ізофлавонів (наприклад, геністеїну, даїдзеїну, гліцитеїну тощо) і ізофлаванів (наприклад, еквола, лонхокапрану, лаксифлорану тощо) і їхніх комбінацій. У ще одному варіанті здійснення композиції, описані в даному документі, можуть містити один або декілька ізофлавоноїдів, вибраних із групи, яка складається з геністеїну, даїдзеїну, гліцитеїну, екволу, лонхокарпану, лаксифлорану і їхніх комбінацій.

В іншому варіанті здійснення композиції, описані в даному документі, можуть містити один або декілька неофлавоноїдів. У ще одному варіанті здійснення композиції, описані в даному документі, можуть містити один або декілька неофлавоноїдів, вибраних із групи, яка складається з неофлавонів (наприклад, калофілолід), неофлавенів (наприклад, далбергіхромен), коутареагенинів, далбергінів, ніветинів і їхніх комбінацій. У ще одному варіанті здійснення композиції, описані в даному документі, можуть містити один або декілька неофлавоноїдів, вибраних із групи, що складається з калофілолід, далбергіхромену, коутареагенину, далбергіну, ніветину і їхніх комбінацій.

В іншому варіанті здійснення композиції, описані в даному документі, можуть містити один або декілька флавоноїдів, вибраних із групи, що складається із катехіну (C), галокатехіну (GC),

катехін-3-галату (Cg), галокатехін-3-галату (GCg), епікатехінів (EC), епігалокатехіну (EGC), епікатехін-3-галату (ECg), епігалокатехін-3-галату (EGCg), флаван-4-олу, лейкоантоціанідину, проантоціанідинів, лютеоліну, апігеніну, тангеритину, кверцетину, кверцитрину, рутину, кемпферолу, кемпферитрину, астрагаліну, флавонолозиду софори, мірицетину, фізетину, ізорамнетину, пахіподолу, рамназину, гесперетину, гесперидину, нарингеніну, еріодиктіолу, гомоеріодиктіолу, дигідрокверцетину, дигідрокемпферолу, ціанідинів, дельфінідинів, мальвідинів, пеларгонідинів, пеонідинів, петунідинів, геністеїну, даїдзеїну, гліцитеїну, екволу, лонхокарпану, лаксифлорану, каллофілоліду, далбергіхромену, коутареагеніну, далбергіну, ніветину і їхніх комбінацій. У ще одному варіанті здійснення композиції, описані в даному документі, можуть містити один або декілька флавоноїдів, вибраних із групи, що складається з гесперетину, гесперидину, нарингеніну, геністеїну, даїдзеїну і їхніх комбінацій. У конкретному варіанті здійснення композиції, описані у даному документі, можуть містити флавоноїд гесперетин. У іншому конкретному варіанті здійснення композиції, описана у даному документі, може містити флавоноїд гесперидин. У ще одному конкретному варіанті здійснення композиції, описана у даному документі, може містити флавоноїд нарингенін. У ще одному конкретному варіанті здійснення композиції, описана у даному документі, може містити флавоноїд геністеїн. У ще одному конкретному варіанті здійснення композиції, описана у даному документі, може містити флавоноїд даїдзеїн.

Нефлавоноїдний(і) індуктор(и) Nod-генів

Жасмонову кислоту (JA, [1R-[1 α ,2 β (Z)]]-3-оксо-2-(пентеніл)циклопентаноцтову кислоту) і її похідні, лінолеву кислоту ((Z, Z)-9,12-октадекадієноєву кислоту) і її похідні, а також ліноленову кислоту ((Z, Z, Z)-9,12,15-октадекатрієнову кислоту) і її похідні можна застосовувати в композиціях, описаних у даному документі. Мається на увазі, що нефлавоноїдні індуктори nod-генів включають не тільки нефлавоноїдні індуктори nod-генів, описані у даному документі, але також їхні ізомери, солі і сольвати.

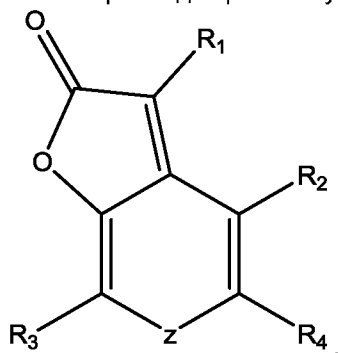
Жасмонова кислота і її метиловий естер, метилжасмонат (MeJA), у сукупності відомі як жасмонати, являють собою октадеканоїдні сполуки, які в природніх умовах зустрічаються в рослин. Жасмонова кислота продукується коріннями проростків пшениці і мікроорганізмами, що відносяться до грибів, такими як *Botryodiplodia theobromae* і *Gibbrella fujikuroi*, дріжджами (*Saccharomyces cerevisiae*), а також патогенними і непатогенними штамми *Escherichia coli*. Лінолева кислота і ліноленова кислота утворюються в ході біосинтезу жасмонової кислоти. Як повідомляється, жасмонати, лінолева кислота і ліноленова кислота (та їхні похідні) є індукторами експресії nod-гена або утворення LCO ризобактеріями. Див., наприклад, Mabood, Fazli, *Jasmonates induce the expression of nod genes in Bradyrhizobium japonicum*, May 17, 2001 і Mabood, Fazli, "Linoleic and linolenic acid induce the expression of nod genes in *Bradyrhizobium japonicum*," USDA 3, May 17, 2001.

Придатні похідні лінолевої кислоти, ліноленової кислоти і жасмонової кислоти, які можна застосовувати в композиціях згідно з даним розкриттям, включають естери, аміді, глікозиди і солі. Типові естери являють собою сполуки, у яких карбоксильна група лінолевої кислоти, ліноленової кислоти або жасмонової кислоти була замінена групою --COR, де R являє собою групу --OR¹, у якій R¹ являє собою алкільну групу, наприклад, C₁-C₈ нерозгалужену або розгалужену алкільну групу, наприклад, метильну, етильну або пропільну групу; алкенільну групу, наприклад, C₂-C₈ нерозгалужену або розгалужену алкенільну групу; алкінільну групу, наприклад, C₂-C₈ нерозгалужену або розгалужену алкінільну групу; арильну групу, що містить, наприклад, 6-10 атомів вуглецю; або гетероарильну групу, що містить, наприклад, 4-9 атомів вуглецю, де гетероатоми в гетероарильній групі можуть являти собою, наприклад, N, O, P або S. Типові аміді являють собою сполуки, у яких карбоксильна група лінолевої кислоти, ліноленової кислоти або жасмонової кислоти була замінена групою --COR, де R являє собою групу NR²R³, у якій R² і R³ незалежно являють собою водень; алкільну групу, наприклад, C₁-C₈ нерозгалужену або розгалужену алкільну групу, наприклад, метильну, етильну або пропільну групу; алкенільну групу, наприклад, C₂-C₈ нерозгалужену або розгалужену алкенільну групу; алкінільну групу, наприклад, C₂-C₈ нерозгалужену або розгалужену алкінільну групу; арильну групу, що містить, наприклад, 6-10 атомів вуглецю; або гетероарильну групу, що містить, наприклад, 4-9 атомів вуглецю, де гетероатоми в гетероарильній групі можуть являти собою, наприклад, N, O, P або S. Естери можна одержувати за допомогою відомих способів, наприклад, каталізованого кислотою нуклеофільного приєднання, де здійснюють реакцію карбонової кислоти зі спиртом у присутності каталітичної кількості мінеральної кислоти. Аміді також можна одержувати за допомогою відомих способів, наприклад, шляхом реакції карбонової кислоти з відповідним аміном у присутності засобу для сполучення, такого як дициклогексилкарбодіімід (DCC), за нейтральних умов. Придатні солі лінолевої кислоти,

ліноленової кислоти і жасмонової кислоти включають, наприклад, солі приєднання основи. Основи, які можна застосовувати в якості реагентів для одержання метаболічно прийнятних основних солей цих сполук, включають ті, які одержані від катіонів, таких як катіони лужних металів (наприклад, калію і натрію) і катіони лужно-земельних металів (наприклад, кальцію і магнію). Ці солі можна легко одержувати за допомогою змішування розчину ліноленової кислоти, ліноленової кислоти або жасмонової кислоти з розчином основи. Цю сіль можна осаджувати з розчину і збирати за допомогою фільтрації або можна виділяти за допомогою інших засобів, наприклад, за допомогою випарювання розчинника.

Карикін(и)

Карикіни являють собою вінілові 4Н-пірони, наприклад, 2Н-фууро[2, 3-с]піран-2-они, у тому числі їхні похідні й аналоги. Мається на увазі, що карикіни включають їхні ізомери, солі і сольвати. Приклади цих сполук представлені наступною структурою:



де Z являє собою O, S або NR₅; кожний з R₁, R₂, R₃ і R₄ незалежно являє собою H, алкіл, алкеніл, алкініл, феніл, бензил, гідроксі, гідроксіалкіл, алкокси, фенілокси, бензілокси, CN, COR₆, COOR₇, галоген, NR₆R₇ або NO₂; і кожний з R₅, R₆ і R₇ незалежно представляє собою H, алкіл або алкеніл або їхню біологічно прийнятну сіль. Приклади біологічно прийнятних солей цих сполук можуть включати солі приєднання кислоти, утворені біологічно прийнятними кислотами, приклади яких включають гідрохлорид, гідробромід, сульфат або бісульфат, фосфат або гідрофосфат, ацетат, бензоат, сукцинат, фумарат, малеат, лактат, цитрат, тартрат, глюконат; метансульфонат, бензолсульфонат і п-толуолсульфонову кислоту. Додаткові біологічно прийнятні солі металів можуть включати солі лужних металів, одержані з основами, приклади яких включають солі натрію і калію. Приклади сполук, які охоплені структурою і які можуть бути придатними для застосування згідно з розкриттям, включають наступні: 3-метил-2Н-фууро[2,3-с]піран-2-он (де R₁=CH₃, R₂, R₃, R₄=H), 2Н-фууро[2,3-с]піран-2-он (де R₁, R₂, R₃, R₄=H), 7-метил-2Н-фууро[2,3-с]піран-2-он (де R₁, R₂, R₄=H, R₃=CH₃), 5-метил-2Н-фууро[2,3-с]піран-2-он (де R₁, R₂, R₃=H, R₄=CH₃), 3,7-диметил-2Н-фууро[2,3-с]піран-2-он (де R₁, R₃=CH₃, R₂, R₄=H), 3,5-диметил-2Н-фууро[2,3-с]піран-2-он (де R₁, R₄=CH₃, R₂, R₃=H), 3,5,7-триметил-2Н-фууро[2,3-с]піран-2-он (де R₁, R₃, R₄=CH₃, R₂=H), 5-метоксиметил-3-метил-2Н-фууро[2,3-с]піран-2-он (де R₁=CH₃, R₂, R₃=H, R₄=CH₂OCH₃), 4-бром-3,7-диметил-2Н-фууро[2,3-с]піран-2-он (де R₁, R₃=CH₃, R₂=Br, R₄=H), 3-метилфууро[2,3-с]піридин-2(3Н)-он (де Z=NH, R₁=CH₃, R₂, R₃, R₄=H), 3,6-диметилфууро[2,3-с]піридин-2(6Н)-он (де Z=N-CH₃, R₁=CH₃, R₂, R₃, R₄=H). Див. патент США № 7576213. Ці молекули також відомі як карикіни. Див. Halford, "Smoke Signals," в Chem. Eng. News (April 12, 2010), на сторінках 37-38, що повідомляють, що карикіни або бутеноліди, які містяться в димі, діють як стимулятори росту і сприяють проростанню насіння після лісової пожежі, і можуть активувати насіння, наприклад, кукурудзи, різновидів томату, латук і різновидів цибулі, які мають зберігатися. Ці молекули є об'єктом патенту США № 7576213.

Корисний(і) мікроорганізм(и)

В одному з варіантів здійснення композиції, описані у даному документі, можуть необов'язково включати один або декілька корисних мікроорганізмів. Один або декілька корисних мікроорганізмів можуть перебувати у формі спор, у вегетативній формі або їхні комбінації. Один або декілька корисних мікроорганізмів можуть включати будь-яку кількість мікроорганізмів, що мають одну або декілька корисних властивостей (наприклад, продукувати одну або декілька сигнальних молекул рослини, описаних у даному документі, збільшувати поглинання поживних речовин і води, стимулювати й/або збільшувати фіксацію азоту, підсилювати ріст, поліпшувати проростання насіння, поліпшувати схожість проростків, переривати діпаузу або стан спокою рослини, забезпечувати протигрибкову активність тощо).

У одному варіанті здійснення одним або декількома корисними мікроорганізмами є діазотрофи (тобто бактерії, які являють собою азотфіксувальні бактерії). У ще одному варіанті здійснення один або декілька корисних мікроорганізмів є бактеріями-діазотрофами, вибраними

із родів *Rhizobium* spp., *Bradyrhizobium* spp., *Azorhizobium* spp., *Sinorhizobium* spp., *Mesorhizobium* spp., *Azospirillum* spp. і їхніх комбінацій. У ще одному варіанті здійснення, одним або декількома корисними мікроорганізмами є бактерії, вибрані із групи, що складається з *Rhizobium cellulosilyticum*, *Rhizobium daejeonense*, *Rhizobium etli*, *Rhizobium galegae*, *Rhizobium gallicum*, *Rhizobium giardinii*, *Rhizobium hainanense*, *Rhizobium huautlense*, *Rhizobium indigoferae*, *Rhizobium leguminosarum*, *Rhizobium loessense*, *Rhizobium lupini*, *Rhizobium lusitanum*, *Rhizobium meliloti*, *Rhizobium mongolense*, *Rhizobium miluonense*, *Rhizobium sullae*, *Rhizobium tropici*, *Rhizobium undicola*, *Rhizobium yanglingense*, *Bradyrhizobium betae*, *Bradyrhizobium canariense*, *Bradyrhizobium elkanii*, *Bradyrhizobium iriomotense*, *Bradyrhizobium japonicum*, *Bradyrhizobium jicamiae*, *Bradyrhizobium liaoningense*, *Bradyrhizobium pachyrhizi*, *Bradyrhizobium yuanmingense*, *Azorhizobium caulinodans*, *Azorhizobium doebereinae*, *Sinorhizobium abri*, *Sinorhizobium adhaerens*, *Sinorhizobium americanum*, *Sinorhizobium aboris*, *Sinorhizobium fredii*, *Sinorhizobium indiaense*, *Sinorhizobium kostiense*, *Sinorhizobium kummerowiae*, *Sinorhizobium medicae*, *Sinorhizobium meliloti*, *Sinorhizobium mexicanus*, *Sinorhizobium morelense*, *Sinorhizobium saheli*, *Sinorhizobium teranga*, *Sinorhizobium xinjiangense*, *Mesorhizobium albiziae*, *Mesorhizobium amorphae*, *Mesorhizobium chacoense*, *Mesorhizobium ciceri*, *Mesorhizobium huakuii*, *Mesorhizobium loti*, *Mesorhizobium mediterraneum*, *Mesorhizobium pluifarium*, *Mesorhizobium septentrionale*, *Mesorhizobium temperatum*, *Mesorhizobium tianshanense*, *Azospirillum amazonense*, *Azospirillum brasilense*, *Azospirillum canadense*, *Azospirillum doebereinae*, *Azospirillum formosense*, *Azospirillum halopraeferans*, *Azospirillum irakense*, *Azospirillum largimobile*, *Azospirillum lipoferum*, *Azospirillum melinis*, *Azospirillum oryzae*, *Azospirillum picis*, *Azospirillum rugosum*, *Azospirillum thiophilum*, *Azospirillum zeae* і їхніх комбінацій.

У конкретному варіанті здійснення корисним мікроорганізмом є бактерія-діазотроф, обрана із групи, що складається з *Bradyrhizobium japonicum*, *Rhizobium leguminosarum*, *Rhizobium meliloti*, *Sinorhizobium meliloti*, *Azospirillum brasilense* і їхніх комбінацій. В іншому варіанті здійснення корисним мікроорганізмом є бактерія-діазотроф *Bradyrhizobium japonicum*. В іншому варіанті здійснення корисним мікроорганізмом є бактерія-діазотроф *Rhizobium leguminosarum*. В іншому варіанті здійснення корисним мікроорганізмом є бактерія-діазотроф *Rhizobium meliloti*. В іншому варіанті здійснення корисним мікроорганізмом є бактерія-діазотроф *Sinorhizobium meliloti*. В іншому варіанті здійснення корисним мікроорганізмом є бактерія-діазотроф *Azospirillum brasilense*.

У конкретному варіанті здійснення один або декілька діазотрофів включають один або декілька штамів *Rhizobium leguminosarum*. В іншому конкретному варіанті здійснення штам *R. leguminosarum* включає штам SO12A-2-(IDAC 080305-01). В іншому конкретному варіанті здійснення один або декілька діазотрофів включають штам *Bradyrhizobium japonicum*. У ще одному конкретному варіанті здійснення штам *Bradyrhizobium japonicum* включає штам *B. japonicum* USDA 532C, *B. japonicum* USDA 110, *B. japonicum* USDA 123, *B. japonicum* USDA 127, *B. japonicum* USDA 129, *B. japonicum* NRRL B-50608, *B. japonicum* NRRL B-50609, *B. japonicum* NRRL B-50610, *B. japonicum* NRRL B-50611, *B. japonicum* NRRL B-50612, *B. japonicum* NRRL B-50592 (також депонований під номером NRRL B-59571), *B. japonicum* NRRL B-50593 (також депонований під номером NRRL B-59572), *B. japonicum* NRRL B-50586 (також депонований під номером NRRL B-59565), *B. japonicum* NRRL B-50588 (також депонований під номером NRRL B-59567), *B. japonicum* NRRL B-50587 (також депонований під номером NRRL B-59566), *B. japonicum* NRRL B-50589 (також депонований під номером NRRL B-59568), *B. japonicum* NRRL B-50591 (також депонований під номером NRRL B-59570), *B. japonicum* NRRL B-50590 (також депонований під номером NRRL B-59569), NRRL B-50594 (також депонований під номером NRRL B-50493), *B. japonicum* NRRL B-50726, *B. japonicum* NRRL B-50727, *B. japonicum* NRRL B-50728, *B. japonicum* NRRL B-50729, *B. japonicum* NRRL B-50730 і їхні комбінації.

У ще більш конкретному варіанті здійснення один або декілька діазотрофів включають один або декілька штамів *R. leguminosarum*, включаючи штам SO12A-2-(IDAC 080305-01), *B. japonicum* USDA 532C, *B. japonicum* USDA 110, *B. japonicum* USDA 123, *B. japonicum* USDA 127, *B. japonicum* USDA 129, *B. japonicum* NRRL B-50608, *B. japonicum* NRRL B-50609, *B. japonicum* NRRL B-50610, *B. japonicum* NRRL B-50611, *B. japonicum* NRRL B-50612, *B. japonicum* NRRL B-50592 (також депонований під номером NRRL B-59571), *B. japonicum* NRRL B-50593 (також депонований під номером NRRL B-59572), *B. japonicum* NRRL B-50586 (також депонований під номером NRRL B-59565), *B. japonicum* NRRL B-50588 (також депонований під номером NRRL B-59567), *B. japonicum* NRRL B-50587 (також депонований під номером NRRL B-59566), *B. japonicum* NRRL B-50589 (також депонований під номером NRRL B-59568), *B. japonicum* NRRL B-50591 (також депонований під номером NRRL B-59570), *B. japonicum* NRRL B-50590 (також депонований під номером NRRL B-59569), NRRL B-50594 (також депонований під номером

NRRL B-50493), *B. japonicum* NRRL B-50726, *B. japonicum* NRRL B-50727, *B. japonicum* NRRL B-50728, *B. japonicum* NRRL B-50729, *B. japonicum* NRRL B-50730 і їхні комбінації.

В іншому варіанті здійснення один або декілька корисних мікроорганізмів включають один або декілька фосфатсолюбілізуювальних мікроорганізмів. Фосфатсолюбілізуювальні

5 мікроорганізми включають грибові і бактеріальні штами. В одному з варіантів здійснення фосфатсолюбілізуювальним мікроорганізмом є мікроорганізми, вибрані з родів, що складаються з *Acinetobacter* spp., *Arthrobacter* spp., *Arthrobotrys* spp., *Aspergillus* spp., *Azospirillum* spp., *Bacillus* spp., *Burkholderia* spp., *Candida* spp., *Chryseomonas* spp., *Enterobacter* spp., *Eupenicillium* spp., *Exiguobacterium* spp., *Klebsiella* spp., *Kluyvera* spp., *Microbacterium* spp., *Mucor* spp., *Paecilomyces* spp., *Paenibacillus* spp., *Penicillium* spp., *Pseudomonas* spp., *Serratia* spp., *Stenotrophomonas* spp., *Streptomyces* spp., *Streptosporangium* spp., *Swaminathanian* spp., *Thiobacillus* spp., *Torulospora* spp., *Vibrio* spp., *Xanthobacter* spp., *Xanthomonas* spp., і їхніх комбінацій. У ще одному варіанті здійснення фосфатсолюбілізуювальний мікроорганізм являє собою мікроорганізм, вибраний із групи, що складається з *Acinetobacter calcoaceticus*, *Arthrobotrys oligospora*, *Aspergillus niger*,
15 *Azospirillum amazonense*, *Azospirillum brasiliense*, *Azospirillum canadense*, *Azospirillum doebereineriae*, *Azospirillum formosense*, *Azospirillum halopraeferans*, *Azospirillum irakense*, *Azospirillum largimobile*, *Azospirillum lipoferum*, *Azospirillum melinis*, *Azospirillum oryzae*, *Azospirillum picis*, *Azospirillum rugosum*, *Azospirillum thiophilum*, *Azospirillum zeae*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus atrophaeus*, *Bacillus circulans*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*,
20 *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia vietnamiensis*, *Candida krissi*, *Chryseomonas luteola*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter asburiae*, *Enterobacter taylorae*, *Eupenicillium parvum*, *Kluyvera cryocrescens*, *Mucor ramosissimus*, *Paecilomyces hepialid*, *Paecilomyces marquandii*, *Paenibacillus macerans*, *Paenibacillus mucilaginosus*, *Penicillium bilaiae* (раніше відомий як *Penicillium bilaii*), *Penicillium albidum*, *Penicillium aurantiogriseum*, *Penicillium chrysogenum*,
25 *Penicillium citreonigrum*, *Penicillium citrinum*, *Penicillium digitatum*, *Penicillium frequentas*, *Penicillium fuscum*, *Penicillium gaestrivorus*, *Penicillium glabrum*, *Penicillium griseofulvum*, *Penicillium implicatum*, *Penicillium janthinellum*, *Penicillium lilacinum*, *Penicillium minioluteum*, *Penicillium montanense*, *Penicillium nigricans*, *Penicillium oxalicum*, *Penicillium pinetorum*, *Penicillium pinophilum*, *Penicillium purpurogenum*, *Penicillium radicans*, *Penicillium radicum*, *Penicillium raistrickii*, *Penicillium rugulosum*, *Penicillium simplicissimum*, *Penicillium solitum*, *Penicillium variabile*, *Penicillium velutinum*, *Penicillium viridicatum*, *Penicillium glaucum*, *Penicillium fusciporus* і *Penicillium expansum*, *Pseudomonas corrugate*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas lutea*, *Pseudomonas poae*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas stutzeri*, *Pseudomonas trivialis*, *Serratia marcescens*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Swaminathanian salitolerans*, *Thiobacillus ferrooxidans*, *Torulospora globosa*, *Vibrio proteolyticus*, *Xanthobacter agilis*, *Xanthomonas campestris* і їхніх комбінацій.

У конкретному варіанті здійснення один або декілька фосфатсолюбілізуювальних мікроорганізмів являють собою штам гриба *Penicillium*. В іншому варіанті здійснення один або декілька видів *Penicillium* являють собою *P. bilaiae*, *P. gaestrivorus* або їхні комбінації.

У конкретному варіанті здійснення один або декілька фосфатсолюбілізуювальних мікроорганізмів являють собою штам гриба *Penicillium*. В іншому варіанті здійснення один або декілька видів *Penicillium* являють собою *P. bilaiae*, *P. gaestrivorus* або їхні комбінації. У конкретному варіанті здійснення штам *Penicillium* включає *P. bilaiae* NRRL 50169, *P. bilaiae* ATCC 20851, *P. bilaiae* ATCC 22348, *P. bilaiae* ATCC 18309, *P. bilaiae* NRRL 50162 і їхні комбінації. В іншому конкретному варіанті здійснення штам *Penicillium* включає штам *P. gaestrivorus* NRRL 50170. У ще одному конкретному варіанті здійснення штам *Penicillium* включає NRRL 50169 *P. bilaiae*, ATCC 20851 *P. bilaiae*, ATCC 22348 *P. bilaiae*, ATCC 18309 *P. bilaiae*, NRRL 50162 *P. bilaiae*, NRRL 50170 *P. gaestrivorus* і їхні комбінації.

В іншому варіанті здійснення корисний мікроорганізм являє собою одну або декілька мікориз. Зокрема, одна або декілька мікориз являють собою ендомікоризу (що також називають везикулярно-арбускулярними мікоризами, VAM, арбускулярними мікоризами або AM), ектомікоризу або їхні комбінації.

В одному варіанті здійснення одна або декілька мікориз являють собою ендомікоризу з відділу *Glomeromycota* і родів *Glomus* і *Gigaspora*. У ще одному варіанті здійснення ендомікориза являє собою штам *Glomus aggregatum*, *Glomus brasilianum*, *Glomus clarum*,
55 *Glomus deserticola*, *Glomus etunicatum*, *Glomus fasciculatum*, *Glomus intraradices*, *Glomus monosporum* або *Glomus mosseae*, *Gigaspora margarita* або їхню комбінацію.

В іншому варіанті здійснення одна або декілька мікориз являють собою ектомікоризу з відділу *Basidiomycota*, *Ascomycota* і *Zygomycota*. У ще одному варіанті здійснення ектомікориза являє собою штам *Laccaria bicolor*, *Laccaria laccata*, *Pisolithus tinctorius*, *Rhizopogon amylopogon*,
60 *Rhizopogon fulvigleba*, *Rhizopogon luteolus*, *Rhizopogon villosuli*, *Scleroderma cepa*, *Scleroderma*

citrinum або їхню комбінацію.

У ще одному варіанті здійснення одна або декілька мікориз являють собою мікоризу ерикоїд, мікоризу арбутоїд або мікоризу монотропоїд. Мікориза арбускулярного типу і ектомікориза утворюють мікоризу ерикоїд з багатьма рослинами, що належать до порядку *Ericales*, при цьому деякі представники *Ericales* утворюють мікоризи арбутоїд і монотропоїд. Усі орхідеї є мікогетеротрофами на певній стадії їх життєвого циклу і утворюють орхідні мікоризи з відділом базидіальних грибів. В одному варіанті здійснення мікориза може являти собою мікоризу ерикоїд, переважно з відділу *Ascomycota*, наприклад, *Hymenoscyphus ericae* або *Oidiodendron* sp. В іншому варіанті здійснення мікориза також може являти собою мікоризу арбутоїд, переважно з відділу *Basidiomycota*. У ще одному варіанті здійснення мікориза може являти собою мікоризу монотропоїд, переважно з відділу *Basidiomycota*. У ще одному варіанті здійснення мікориза може являти собою мікоризу орхідеї, переважно з роду *Rhizoctonia*.

У ще одному варіанті здійснення один або декілька корисних мікроорганізмів являють собою фунгіциди, тобто мають фунгіцидну активність (наприклад, біофунгіциди). Необмежувальні приклади біофунгіцидів представлені нижче в розділі "Фунгіциди".

Фунгіцид(и)

В одному варіанті здійснення композиції, описані у даному документі, можуть додатково містити один або декілька фунгіцидів. Фунгіциди, придатні для композицій, описаних у даному документі, можуть являти собою біологічні фунгіциди, хімічні фунгіциди або їхні комбінації. Можна робити добір фунгіцидів, у такий спосіб забезпечуючи ефективний контроль над широким спектром фітопатогенних грибів, включаючи гриби, що передаються через ґрунт, які походять головним чином із класів *Plasmodiophoromycetes*, *Peronosporomycetes* (син. *Oomycetes*), *Chytridiomycetes*, *Zygomycetes*, *Ascomycetes*, *Basidiomycetes* і *Deuteromycetes* (син. *Fungi imperfecti*). Більш розповсюджені грибні патогени, які можуть піддаватися ефективному цільовому впливу, включають *Pytophthora*, *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Pythium*, *Phomopsis* або *Sclerotinia* і *Phakopsora* і їхні комбінації.

У конкретних варіантах здійснення біологічний фунгіцид може являти собою бактерію із роду *Actinomycetes*, *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Alcaligenes*, *Aureobacterium*, *Azobacter*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Brevibacillus*, *Burkholderia*, *Chromobacterium*, *Clostridium*, *Clavibacter*, *Comomonas*, *Corynebacterium*, *Curtobacterium*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Gluconobacter*, *Hydrogenophage*, *Klebsiella*, *Methylobacterium*, *Paenibacillus*, *Pasteuria*, *Phingobacterium*, *Photorhabdus*, *Phyllobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Serratia*, *Stenotrophomonas*, *Variovorax* і *Xenorhabdus*. У конкретних варіантах здійснення бактерії вибрані з групи, яка складається із *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus cereus*, *Bacillus firmus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus sphaericus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis*, *Chromobacterium suttsuga*, *Pasteuria penetrans*, *Pasteuria usage* і *Pseudomona fluorescens*.

У конкретних варіантах здійснення біологічний фунгіцид може являти собою гриб з роду *Alternaria*, *Ampelomyces*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Beauveria*, *Colletotrichum*, *Coniothyrium*, *Gliocladium*, *Metarhizium*, *Muscodor*, *Paecilomyces*, *Trichoderma*, *Typhula*, *Ulocladium* і *Verticillium*. У конкретних варіантах здійснення грибом є *Beauveria bassiana*, *Coniothyrium minitans*, *Gliocladium virens*, *Metarhizium anisopliae*, *Muscodor albus*, *Paecilomyces lilacinus* або *Trichoderma polysporum*.

Необмежувальні приклади біологічних фунгіцидів, які можуть бути придатними для використання відповідно до цього розкриття, включають *Ampelomyces quisqualis* (наприклад, AQ 10® від Intrachem Bio GmbH & Co. KG, Німеччина), *Aspergillus flavus* (наприклад, AFLAGUARD® від Syngenta, CH), *Aureobasidium pullulans* (наприклад, BOTECTOR® від bio-ferm GmbH, Німеччина), *Bacillus pumilus* (наприклад, ізолят NRRL-Nr. B-21661 в RHAPSODY®, SERENADE® MAX і SERENADE® ASO від Fa. Agraquest Inc., США), *Bacillus amyloliquefaciens*, FZB24 *Bacillus amyloliquefaciens* (наприклад, TAEGRO® від Novozymes Biologicals, Inc., США), TJ1000 *Bacillus amyloliquefaciens* (наприклад, також відомий як 1BE, ізолят ATCC BAA-390), *Candida oleophila*, I-82 *Candida oleophila* (наприклад, ASPIRE® від Ecogen Inc., США), *Candida saitoana* (наприклад, BIOCURE® (у суміші з лізоцимом) і BIOCOAT® від Micro Flo Company, США (BASF SE) і Arysta), *Clonostachys rosea* f. *catenulata*, що також називають *Gliocladium catenulatum* (наприклад, ізолят J1446: PRESTOP® від Verdera, Фінляндія), *Coniothyrium minitans* (наприклад, CONTANS® від Prophyta, Німеччина), *Cryphonectria parasitica* (наприклад, Endothia parasitica від CNICM, Франція), *Cryptococcus albidus* (наприклад, YIELD PLUS® від Anchor Bio-Technologies, Південна Африка), *Fusarium oxysporum* (наприклад, BIOFOX® від S.I.A.P.A., Італія, FUSACLEAN® від Natural Plant Protection, Франція), *Metschnikowia fructicola* (наприклад, SHEMER® від Agrogreen, Ізраїль), *Microdochium dimerum* (наприклад, ANTIBOT® від Agrauxine, Франція), *Phlebiopsis gigantea* (наприклад, ROTSOP® від Verdera, Фінляндія), *Pseudozyma flocculosa* (наприклад, SPORODEX® від Plant Products Co. Ltd., Канада), *Pythium oligandrum*, *Pythium oligandrum* DV74

(наприклад, POLYVERSUM® від Remeslo SSRO, Biopreparaty, Чеська Республіка), Reynoutria sachalinensis (наприклад, REGALIA® від Marrone Bioinnovations, США), Talaromyces flavus, V117b Talaromyces flavus (наприклад, PROTUS® від Prophyta, Німеччина), Trichoderma asperellum, SKT-1 Trichoderma asperellum (наприклад, ECO-HOPE® від Kumiai Chemical Industry Co., Ltd., Японія), Trichoderma atroviride, LC52 Trichoderma atroviride (наприклад, SENTINEL® від Agrimm Technologies Ltd, Нова Зеландія), Trichoderma harzianum, T-22 Trichoderma harzianum (наприклад, PLANTSHIELD® der Firma Bioworks Inc., США), TH 35 Trichoderma harzianum (наприклад, ROOT PRO® від Mycontrol Ltd., Ізраїль), T-39 Trichoderma harzianum (наприклад, TRICHODEX® і TRICHODERMA 2000® від Mycontrol Ltd., Ізраїль і Makhteshim Ltd., Ізраїль), ICC012 T. harzianum, T. harzianum і T. viride (наприклад, TRICHOPEL від Agrimm Technologies Ltd, Нова Зеландія), ICC012 T. harzianum і ICC080 T. viride (наприклад, REMEDIER® від Isagro Ricerca, Італія), T. polysporum і T. harzianum (наприклад, BINAB® від BINAB Bio-Innovation AB, Швеція), Trichoderma stromaticum (наприклад, TRICOVAB® від C.E.P.L.A.C., Бразилія), Trichoderma virens, GL-21 T. virens (наприклад, SOILGARD® від Certis LLC, США), G1-3 T. virens (наприклад, ATCC 58678 від Novozymes Bioag, Inc.), G1-21 T. virens (наприклад, комерційно доступний від Thermo Trilogy Corporation) Trichoderma viride (наприклад, TRIECO® від Ecosense Labs. (Індія) Pvt. Ltd., Індія), BIO-CURE® F від T. Stanes & Co. Ltd., Індія), TV1 T. viride (наприклад, TV1 T. viride від Agribiotec srl, Італія), ICC080 T. viride, Streptomyces lydicus, WYEC 108 Streptomyces lydicus (наприклад, ізолят ATCC 55445 в ACTINOVATE®, ACTINOVATE AG®, ACTINOVATE STP®, ACTINO-IRON®, ACTINOVATE L&G®, і ACTINOGROW® від Idaho Research Foundation, США), Streptomyces violaceusniger, YCED 9 Streptomyces violaceusniger (наприклад, ізолят ATCC 55660 в DE-THATCH-9®, DECOMP-9® і THATCH CONTROL® від Idaho Research Foundation, США), WYE 53 Streptomyces (наприклад, ізолят ATCC 55750 в DE-THATCH-9®, DECOMP-9® і THATCH CONTROL® від Idaho Research Foundation, США) і Ulocladium oudemansii, HRU3 Ulocladium oudemansii (наприклад, BOTRY-ZEN® від Botry-Zen Ltd, Нова Зеландія).

У конкретному варіанті здійснення біофунгіцидом є FZB24 Bacillus amyloliquefaciens. В іншому конкретному варіанті здійснення біофунгіцидом є TJ1000 Bacillus amyloliquefaciens. У ще одному конкретному варіанті здійснення біофунгіцидом є WYEC 108 Streptomyces lydicus. У ще одному конкретному варіанті здійснення біофунгіцидом є YCED 9 Streptomyces violaceusniger. У іншому конкретному варіанті здійснення біофунгіцидом є WYE 53 Streptomyces. У ще одному конкретному варіанті здійснення біофунгіцидом є G1-3 Trichoderma virens. В іншому конкретному варіанті здійснення біофунгіцидом є G1-21 Trichoderma virens.

У ще одному конкретному варіанті здійснення біофунгіцидом є комбінація FZB24 Bacillus amyloliquefaciens, TJ1000 Bacillus amyloliquefaciens, WYEC 108 Streptomyces lydicus, YCED 9 Streptomyces violaceusniger, WYE 53 Streptomyces, G1-3 Trichoderma virens, G1-21 Trichoderma virens або їхні комбінації (наприклад, до щонайменше одного, щонайменше двох, щонайменше трьох, щонайменше чотирьох, щонайменше п'яти, щонайменше шести, щонайменше семи і включаючи всі штами в комбінації).

У додаткових варіантах здійснення біологічний фунгіцид може являти собою активатори росту рослин або засоби для захисту рослин, включаючи без обмеження гарпін, Reynoutria sachalinensis тощо.

Типові приклади придатних хімічних фунгіцидів, які можуть бути придатними для застосування згідно з даним розкриттям, включають ароматичні вуглеводні, бензimidазоли, бензтіадіазол, карбоксаміди, амід карбонових кислот, морфоліни, феніламід, фосфонати, хінонові зовнішні інгібітори (наприклад стробілурини), тіазолідини, тіофанати, тіофенкарбоксаміди і тріазоли:

А) стробілурини:

азоксистробін, куметоксистробін, кумоксистробін, димоксистробін, енестробурин, флуоксастробін, крезоксим-метил, метоміностробін, орисастробін, пікоксистробін, піраклостробін, піраметостробін, піраоксистробін, пірибенкарб, трифлуксистробін, метиловий естер 2-[2-(2,5-диметил-феноксиметил)-феніл]-3-метокси-акрилової кислоти і 2-(2-(3-(2,6-дихлорфеніл)-1-метил-аліліденамінооксиметил)-феніл)-2-метоксиіміно-N-метил-ацетамід;

В) карбоксаміди:

карбоксаніліди: беналаксил, беналаксил-М, беноданіл, біксафен, боскалід, карбоксин, фенфурам, фенгексамід, флутоланіл, флуксапіроксад, фураметпір, ізопіразам, ізотіаніл, кіралаксил, мепроніл, металаксил, металаксил-М (мефеноксам), офурас, оксидиксил, оксикарбоксин, пенфлуфен, пентіопірад, седаксан, теклофталам, тифлузамід, тіадиніл, 2-аміно-4-метил-тіазол-5-карбоксанілід, N-(4'-трифторметилтіобіфеніл-2-іл-3-дифторметил-1-метил-1H-піразол-4-карбоксамід і N-(2-(1,3,3-триметилбутил)-феніл)-1,3-диметил-5-фтор-1H-піразол-4-

карбоксамід;

морфоліди карбонової кислоти: диметоморф, флуморф, піриморф;

аміди бензойної кислоти: флуметовер, флуопіколід, флуопірам, зоксамід;

5 інші карбоксаміди: карпропамід, дицикломет, мандипроамід, окситетрациклін, силтіофам і N-(6-метокси-піридин-3-іл) амід циклопропанкарбонової кислоти;

С) азоли:

тріазоли: азаконазол, бітертанол, бромуконазол, ципроконазол, дифенокконазол, диніконазол, диніконазол-М, епоксиконазол, фенбуконазол, флуквіконазол, флузилазол, флутріафол, гексаконазол, імібенконазол, іпконазол, метконазол, міклобутаніл, окспоконазол, паклобутразол, пенконазол, пропіконазол, протіокконазол, симекконазол, тебуконазол, тетраконазол, триадімефон, триадіменол, тритіконазол, уніконазол;

імідазоли: циазофамід, імазаліл, пефуразоат, прохлораз, трифлумізол;

Д) гетероциклічні сполуки:

піридини: флуазинам, пірифенокс, 3-[5-(4-хлор-феніл)-2,3-диметил-ізоксазолідин-3-іл]-піридин, 3-[5-(4-метил-феніл)-2,3-диметил-ізоксазолідин-3-іл]-піридин;

15 піримідини: бупіримат, ципродиніл, дифлуметорим, фенаримол, феримзон, мепаніпірим, нітрапірин, нуарімом, піриметаніл;

піперазини: трифорин;

піроли: фенпіклоніл, флудиоксоніл;

20 морфоліни: альдиморф, додеморф, додеморф-ацетат, фенпропіморф, тридеморф;

піперидини: фенпропідин;

дикарбоксиміди: флуоромід, іпродіон, процимідон, вінклозолін;

неароматичні 5-членні гетероцикли: фамоксадон, фенамідон, флутіаніл, октилінон, пробеназол, S-аліловий естер 5-аміно-2-ізопропіл-3-оксо-4-орто-толіл-2,3-дигідро-піразол-1-тіокарбонової кислоти;

25 інші: ацибензолар-S-метил, аметоктрадин, амісульбром, анілазин, бластицидин-S, каптафол, каптан, хінометіонат, дазомет, дебакарб, дикломезин, дифензокват, дифензокват-метилсульфат, феноксаніл, фолпет, оксолінова кислота, піпералін, проквіназид, піроквілон, квіноксифен, тріазоксид, трициклазол, 2-бутоксигідроксипропілхромон-4-он, 5-хлор-1-(4,6-диметокси-піримідин-2-іл)-2-метил-1Н-бензоімідазол і 5-хлор-7-(4-метилпіперидин-1-іл)-6-(2,4,6-трифторфеніл)-[1,2,4]тріазоло-[1,5-а]піримідин;

Е) бензаімідазоли:

карбендазим;

Ф) інші активні речовини:

35 гуанідини: гуанідин, додин, вільна основа додину, гуазатин, гуазатин-ацетат, іміноктадин, іміноктадин-триацетат, іміноктадин-трис(албезилат);

антибіотики: касугаміцин, касугаміцин гідрохлорид-гідрат, стрептоміцин, поліоксин, валідаміцин А;

40 похідні нітрофенілу: бінапакрил, диклоран, динобутон, динокап, нітротал-ізопропіл, текназен, металоорганічні сполуки: солі фентину, такі як фентин ацетат, фентин хлорид або фентин гідроксид;

сірковмісні гетероциклічні сполуки: дитіанон, ізопротіолан;

фосфороорганічні сполуки: едифенфос, фозетил, фозетил-алюміній, іпробенфос, фосфорна кислота і її солі, піразофос, толклофос-метил;

45 хлороорганічні сполуки: хлорталоніл, дихлофлуанід, дихлорофен, флусульфамід, гексахлорбензол, пенцикурон, пентахлорфенол і його солі, фталід, квінтозен, тіофанат-метил, тіофанат, толілфлуанід, N-(4-хлор-2-нітро-феніл)-N-етил-4-метил-бензолсульфонамід;

неорганічні активні речовини: бордоська суміш, ацетат міді, гідроксид міді, оксихлорид міді, основний сульфат міді і сірка.

50 Комерційні фунгіциди в найбільш придатному випадку застосовують згідно з інструкціями виробника в рекомендованих концентраціях.

Гербіцид(и)

В одному варіанті здійснення композиції, описані в цьому документі, можуть додатково містити один або декілька гербіцидів. Необмежувальні приклади гербіцидів включають інгібітори ацетил-КоА карбоксилази, ацетаніліди, інгібітори синтази ацетогідроксикилот, інгібітори біосинтезу каротиноїдів, інгібітори збуджувальних постсинаптичних потенціалів, інгібітори глутамінсинтази, інгібітори поліфенолоксидази, інгібітори фотосистеми II і синтетичні ауксини. У конкретному варіанті здійснення гербіцид може бути досходовим гербіцидом, післясходовим гербіцидом або їхньою комбінацією.

60 Придатні гербіциди включають хімічні гербіциди, природні гербіциди (наприклад,

біогербіциди, органічні гербіциди тощо) або їхні комбінації. Необмежувальні приклади придатних гербіцидів включають ацетохлор, дикамбу, бентазон, ацифлуорфен, хлоримурон, лактофен, кломазон, флуазифоп, флуміоксазин, глүфосинат, гліфосат, сетоксидим, імазетапір, імазамокс, фомесаф, фомесафен, флуміклопак, імазаквін, мезотріон, квізалофоп, сафлуфенацил, сулькотріон, 2,4-дихлорфеноксіоцтову кислоту (2,4-D), 2,4,5-трихлорфеноксіоцтову кислоту (2,4,5-T), тактомін (наприклад, тактоміни, описані у патенті США № 7989393) і клетодим. Комерційні продукти, що містять кожен із цих сполук, є легкодоступними. Концентрація гербіциду в композиції зазвичай буде відповідати позначеній нормі застосування для певного гербіциду.

Інсектицид(и), акарицид(и), нематоцид(и)

В одному варіанті здійснення композиції, описані у даному документі, можуть додатково містити один або декілька інсектицидів, акарицидів, нематоцидів або їхніх комбінацій. Інсектициди, придатні для композицій, описаних у даному документі, відповідно мають активність відносно широкого спектра комах, у тому числі без обмеження дротяників, совок, хробакоподібних личинок, кукурудзяного жука, личинок мухи паросткової, земляних блішок, клопів-наземників, тлі, листоїдів, щитників і їхніх комбінацій. Інсектициди, акарициди і нематоциди, описані у даному документі, можуть бути хімічними або природними (наприклад, біологічні розчини, такі як грибні пестициди тощо).

Необмежувальні приклади інсектицидів, акарицидів і нематоцидів, які можуть бути придатними для композицій, розкритих у даному документі, включають карбамати, діаміди, макроциклічні лактони, неоникотиноїди, органофосфати, фенілпіразоли, піретрини, спінозини, синтетичні піретроїди, тетранову і тетранову кислоти.

У конкретних варіантах здійснення інсектициди, акарициди і нематоциди включають акринатрин, альфа-циперметрин, бета-цифлутрин, цигалотрин, циперметрин, дельтаметрин, фенвалерат, етофенпрокс, фенпропатрин, фенвалерат, флутитринат, фостіазат, лямбда-цигалотрин, гамма-цигалотрин, перметрин, тау-флювалінат, трансфлутрин, зета-циперметрин, цифлутрин, біфентрин, тефлутрин, ефлусиланат, фубфенпрокс, піретрин, ресметрин, імідаклоприд, ацетаміприд, тіаметоксам, нітенпірам, тіаклоприд, динотефуран, клотианідин, імідаклотиз, хлорфлуазурон, дифлубензурон, люфенурон, тефлубензурон, трифлумурон, новалурон, флуфеноксурон, гексафлумурон, бістрифлуорон, новіфлумурон, бупрофезин, циромазин, метоксифенозид, тебуфенозид, гелофенозид, кромафенозид, ендосульфат, фіпроніл, етипрол, пірафлупрол, пірипрол, флубендіамід, хлорантраніліпрол (Rynaхур), клотианідин, циазипір, емаектин, емаектин бензоат, абамектин, івермектин, мілбемектин, лепімектин, тебуфенпірад, фенпероксимат, піридабен, феназаквін, піримідифен, толфенпірад, дикофол, циенопірафен, цифлуметофен, ацеквіноцил, флуакрипирин, біфеназат, диафентіурон, етоксазол, клофентезин, спіносад, триаратен, тетрадифон, пропаргіт, гекситіазокс, бромпропілат, хінометіонат, амітраз, пірифлуквіназон, піметрозин, флонікамід, пірипроксифен, діофенолан, хлорфенапір, метафлумізон, індоксакарб, хлорпірифос, спіродиклофен, спіромезифен, спіротетрамат, піридаліл, спікторам, ацефат, тріазофос, профенофос, оксаміл, спінеторам, фенаміфос, фенаміпклотіахос, 4-[[[(6-хлоропіриділ-3-іл)метил](2,2-дифторетил)аміно]фуран-2(5H)-он, кадусафос, карбарил, карбофуран, етопрофос, тіодикарб, альдикарб, альдоксикарб, метамідофос, метіокарб, сульфоксафлор, ціантраніліпрол, а також продукти на основі *Bacillus firmus* (I-1582, BioNeem, Votivo) і їхні комбінації.

У конкретному варіанті здійснення інсектицидом є мікробний інсектицид. У більш конкретному варіанті здійснення мікробним інсектицидом є грибний інсектицид. Необмежувальні приклади грибних інсектицидів, які можна застосовувати в композиціях, розкритих у даному документі, описані в McCoy, C. W., Samson, R. A., and Coucias, D. G. "Entomogenous fungi. B "CRC Handbook of Natural Pesticides. Microbial Pesticides, Part A. Entomogenous Protozoa and Fungi." (C. M. Inoffo, ed.), (1988): Vol. 5, 151-236; Samson, R. A., Evans, H.C., and Latge, J. P. "Atlas of Entomopathogenic Fungi." (Springer-Verlag, Berlin) (1988) and deFaria, M. R. and Wraight, S. P. "Mycoinsecticides and Mycoacaricides: A comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types." Biol. Control (2007), doi: 10.1016/j.biocontrol.2007.08.001.

В одному варіанті здійснення необмежувальні приклади грибних інсектицидів, які можна застосовувати в композиціях, розкритих у даному документі, включають види *Coelomycidium*, *Myiophagus*, *Coelemonomyces*, *Lagenidium*, *Leptolegnia*, *Couchia*, *Sporodiniella*, *Conidiobolus*, *Entomophaga*, *Entomophthora*, *Erynia*, *Massospora*, *Meristacrum*, *Neozygites*, *Pandora*, *Zoophthora*, *Blastodendron*, *Metschnikowia*, *Mycoderma*, *Ascophaea*, *Cordyceps*, *Torribiella*, *Nectria*, *Hypocrella*, *Calonectria*, *Filariomyces*, *Hesperomyces*, *Trenomyces*, *Myriangium*, *Podonectria*, *Akanthomyces*, *Aschersonia*, *Aspergillus*, *Beauveria*, *Culicinomyces*, *Engyodontium*, *Fusarium*,

Gibellula, Hirsutella, Hymenostilbe, Isaria, Metarhizium, Nomuraea, Paecilomyces, Paraisaria, Pleurodesmospora, Polycephalomyces, Pseudogibellula, Sorosporella, Stillbella, Tetranaecium, Tilachlidium, Tolypocladium, Verticillium, Aegerita, Filobasidiella, Septobasidium, Uredinella і їхні комбінації.

5 Необмежувальні приклади конкретних видів, які можна застосовувати в якості грибного інсектициду в композиціях, описаних у даному документі, включають *Trichoderma hamatum*, *Trichoderma hazarium*, *Alternaria cassiae*, *Fusarium lateritum*, *Fusarium solani*, *Lecanicillium lecanii*, *Aspergillus parasiticus*, *Verticillium lecanii*, *Metarhizium anisopliae* і *Beauveria bassiana*. В одному з варіантів здійснення композиції, розкриті в даному документі, можуть включати будь-який із

10 грибних інсектицидів, наведених вище, включаючи будь-яку їхню комбінацію.

В одному варіанті здійснення композиція містить щонайменше один грибний інсектицид з роду *Metarhizium* spp., такий як *Metarhizium anisopliae* (також може вказуватися в рівні техніки як *Metarrhizium anisopliae*, *Metarhizium brunneum* або "зелена мускардина"). У щонайменше одному варіанті здійснення грибний інсектицид містить штам *Metarhizium anisopliae*. В іншому варіанті

15 здійснення композиція містить спори штаму *Metarhizium anisopliae*.

У конкретному варіанті здійснення композиція містить щонайменше один грибний пестицид, що містить штам F52 *Metarhizium anisopliae* (також відомий як штам 52 *Metarhizium anisopliae*, штам 7 *Metarhizium anisopliae*, штам 43 *Metarhizium anisopliae*, BIO-1020, TAE-001 *Metarhizium anisopliae* і депонований під номерами DSM 3884, DSM 3885, ATCC 90448, SD 170 і ARSEF

20 7711) (доступний від Novozymes Biologicals, Inc., США). У ще одному конкретному варіанті здійснення композиція містить щонайменше один грибний інсектицид, що містить спори штаму F52 *Metarhizium anisopliae*.

У ще одному варіанті здійснення композиція може додатково містити щонайменше один грибний інсектицид з роду *Beauveria* spp., такий як, наприклад, *Beauveria bassiana*. У щонайменше одному варіанті здійснення грибний інсектицид додатково містить штам *Beauveria bassiana*. В іншому варіанті здійснення композиція додатково містить спори штаму *Beauveria bassiana*.

У конкретному варіанті здійснення композиція додатково містить щонайменше один грибний інсектицид, що містить штам ATCC-74040 *Beauveria bassiana*. В іншому варіанті здійснення композиція додатково містить щонайменше один грибний інсектицид, що містить спори штаму ATCC-74040 *Beauveria bassiana*. В іншому конкретному варіанті здійснення композиція додатково містить щонайменше один грибний інсектицид, що містить штам ATCC-74250 *Beauveria bassiana*. У ще одному конкретному варіанті здійснення композиція додатково містить щонайменше один грибний інсектицид, що містить спори штаму ATCC-74250 *Beauveria bassiana*. У ще одному конкретному варіанті здійснення композиція додатково містить щонайменше один грибний інсектицид, що містить суміш штаму ATCC-74040 *Beauveria bassiana* і штаму ATCC-74250 *Beauveria bassiana*. У ще одному варіанті здійснення композиція додатково містить щонайменше один грибний інсектицид, що містить суміш спор штаму ATCC-74040 *Beauveria bassiana* і штаму ATCC-74250 *Beauveria bassiana*.

40 У ще одному конкретному варіанті здійснення композиції, описані в даному документі, можуть містити комбінацію грибів. В одному варіанті здійснення композиція може містити два або більше грибних інсектицидів, які є різними штамми того самого виду. В іншому варіанті здійснення композиція містить щонайменше два різні грибні інсектициди, які є штамми різних видів. В одному з варіантів здійснення композиція містить щонайменше один грибний

45 інсектицид з роду *Metarhizium* spp. і щонайменше один грибний інсектицид з роду *Beauveria* spp... В іншому варіанті здійснення композиція містить спори *Metarhizium* spp. і *Beauveria* spp.

У конкретному варіанті здійснення композиція містить щонайменше один грибний інсектицид, де щонайменше одним грибним інсектицидом є штам *Metarhizium anisopliae* і щонайменше одним грибним інсектицидом є штам *Beauveria bassiana*. В іншому варіанті здійснення композиція містить щонайменше один грибний інсектицид, де грибний інсектицид містить спори *Metarhizium anisopliae* і *Beauveria bassiana*.

У більш конкретному варіанті здійснення композиція містить щонайменше один грибний інсектицид, де щонайменше одним грибним інсектицидом є штам F52 *Metarhizium anisopliae* і щонайменше одним грибним інсектицидом є штам штаму ATCC-74040 *Beauveria bassiana*. У ще

55 одному варіанті здійснення композиція містить щонайменше один грибний інсектицид, де грибний інсектицид містить спори штаму F52 *Metarhizium anisopliae* і штаму ATCC-74040 *Beauveria bassiana*.

У ще одному конкретному варіанті здійснення композиція містить щонайменше один грибний інсектицид, де щонайменше одним грибним інсектицидом є штам F52 *Metarhizium anisopliae* і щонайменше одним грибним інсектицидом є штам штаму ATCC-74250 *Beauveria*

60 *anisopliae* і щонайменше одним грибним інсектицидом є штам штаму ATCC-74250 *Beauveria*

bassiana. У ще одному варіанті здійснення композиція містить щонайменше один грибний інсектицид, де грибний інсектицид містить спори штаму F52 *Metarhizium anisopliae* і штаму ATCC-74250 *Beauveria bassiana*.

У ще одному конкретному варіанті здійснення композиція містить щонайменше один
5 грибний інсектицид, де щонайменше одним грибним інсектицидом є штам F52 *Metarhizium*
anisopliae, щонайменше одним грибним інсектицидом є штам штаму ATCC-74040 *Beauveria*
bassiana і щонайменше одним грибним інсектицидом є штам штаму ATCC-74250 *Beauveria*
bassiana. У ще одному варіанті здійснення композиція містить щонайменше один грибний
інсектицид, де грибний інсектицид містить спори штаму F52 *Metarhizium anisopliae*, штаму
10 ATCC-74040 *Beauveria bassiana* і штаму ATCC-74250 *Beauveria bassiana*.

В іншому варіанті здійснення композиція містить щонайменше один грибний інсектицид, де щонайменше одним грибним інсектицидом є штам *Paecilomyces fumosoroseus*. У ще одному варіанті здійснення композиція містить щонайменше один грибний інсектицид, де щонайменше одним грибним інсектицидом є штам FE991 *Paecilomyces fumosoroseus* (в NOFLY® від FuturEco Bioscience S.L., Барселона, Іспанія). У ще одному варіанті здійснення композиція містить щонайменше один грибний інсектицид, де щонайменше одним грибним інсектицидом є штам FE991 *Paecilomyces fumosoroseus*, щонайменше одним грибним інсектицидом є штам F52 *Metarhizium anisopliae*, щонайменше одним грибним інсектицидом є штам штаму ATCC-74040 *Beauveria bassiana* і щонайменше одним грибним інсектицидом є штам штаму ATCC-74250 *Beauveria bassiana* і їхні комбінації.

В іншому варіанті здійснення композиції, розкриті в даному документі, містять нематоцид. У більш конкретному варіанті здійснення нематоцидом є мікробний нематоцид, переважно нематофаговий гриб і/або нематофагові бактерії. У конкретному варіанті здійснення мікробним нематоцидом є нематофаговий гриб, вибраний із групи, що складається з *Arthrobotrys* spp., *Dactylaria* spp., *Harposporium* spp., *Hirsutella* spp., *Monacrosporium* spp., *Nematoctonus* spp., *Meristacrum* spp., *Myrothecium* spp., *Paecilomyces* spp., *Pasteuria* spp., *Pochonia* spp., *Trichoderma* spp., *Verticillium* spp. і їхніх комбінацій. У ще більш конкретному варіанті здійснення нематофаговий гриб вибраний із групи, що складається з *Arthrobotrys dactyloides*, *Arthrobotrys oligospora*, *Arthrobotrys superb*, *Arthrobotrys dactyloides*, *Dactylaria candida*, *Harposporium anguillulae*, *Hirsutella rhossiliensis*, *Hirsutella minnesotensis*, *Monacrosporium cionopagum*, *Nematoctonus geogenius*, *Nematoctonus leiosporus*, *Meristacrum asterospermum*, *Myrothecium verrucaria*, *Paecilomyces lilacinus*, *Paecilomyces fumosoroseus*, *Pasteuria penetrans*, *Pasteuria usgae*, *Pochonia chlamydospora*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma virens*, *Verticillium chlamydosporum* і їхніх комбінацій.

35 У більш конкретному варіанті здійснення мікробним нематоцидом є нематофагові бактерії,
 вибрані із групи, що складається з *Actinomycetes* spp., *Agrobacterium* spp., *Arthrobacter* spp.,
Alcaligenes spp., *Aureobacterium* spp., *Azobacter* spp., *Beijerinckia* spp., *Burkholderia* spp.,
Chromobacterium spp., *Clavibacter* spp., *Clostridium* spp., *Comomonas* spp., *Corynebacterium* spp.,
 40 *Curtobacterium* spp., *Desulforibitio* spp., *Enterobacter* spp., *Flavobacterium* spp., *Gluconobacter* spp.,
Hydrogenophage spp., *Klebsiella* spp., *Methylobacterium* spp., *Phyllobacterium* spp.,
Phingobacterium spp., *Photorhabdus* spp., *Serratia* spp. *Stenotrophomonas* spp., *Xenorhabdus*
 spp. *Variovorax* spp., *Streptomyces* spp., *Pseudomonas* spp., *Paenibacillus* spp. і їхні комбінації.

У ще більш конкретному варіанті здійснення мікробним нематоцидом є нематофагові бактерії, вибрані із групи, що складається з *Chromobacterium subtsugae*, *Chromobacterium violaceum*, *Streptomyces lydicus*, *Streptomyces violaceusniger* і їхні комбінації. У конкретному варіанті здійснення штам *Chromobacterium subtsugae* переважно є штамом *Chromobacterium subtsugae* sp. nov., зокрема, штам *Chromobacterium subtsugae* sp. nov. має обліковий номер у депозитарії NRRL B-30655. У ще одному конкретному варіанті здійснення штам *Streptomyces* є штамом WYEC 108 *Streptomyces lydicus*, штамом YCED 9 *Streptomyces violaceusniger*, WYE53 *Streptomyces* або їхньою комбінацією.

Поживна(і) речовина(и)

У ще одному варіанті здійснення композиції, описані в даному документі, можуть додатково містити одну або декілька корисних поживних речовин. Необмежувальні приклади поживних речовин для застосування в композиціях, описаних у даному документі, включають вітаміни (наприклад, вітамін А, комплекс вітамінів В (тобто вітамін В₁, вітамін В₂, вітамін В₃, вітамін В₅, вітамін В₆, вітамін В₇, вітамін В₈, вітамін В₉, вітамін В₁₂, холін), вітамін С, вітамін D, вітамін Е, вітамін К, каротиноїди (α-каротин, β-каротин, криптоксантин, лютеїн, лікопен, зеаксантин тощо), макроелементи (наприклад, фосфор, кальцій, магній, калій, натрій, залізо тощо), мікроелементи (наприклад, бор, кобальт, хлорид, хром, мідь, фторид, йод, залізо, марганець, молібден, селен, цинк тощо), органічні кислоти (наприклад, оцтову кислоту, лимонну кислоту, молочну кислоту,

яблучну кислоту, таурин тощо) і їхні комбінації. У конкретному варіанті здійснення композиції можуть містити фосфор, бор, хлор, мідь, залізо, марганець, молібден, цинк або їхні комбінації.

В іншому варіанті здійснення композиції, описані в даному документі, можуть додатково містити фосфор. В одному варіанті здійснення фосфор може бути отриманий із джерела. В іншому варіанті здійснення придатні джерела фосфору включають джерела фосфору, здатні зазнати сольобілізації під впливом одного або декількох мікроорганізмів (наприклад, *Penicillium bilaiae* тощо).

В одному варіанті здійснення фосфор може бути отриманий з фосфатної руди. В іншому варіанті здійснення фосфор може бути отриманий з добрив, що містять один або декілька джерел фосфору. Комерційно доступні готові фосфатні добрива підрозділяються на ряд видів. Деякі розповсюджені види містять фосфорит, моноамонійфосфат, діамонійфосфат, монокальційфосфат, суперфосфат, потрійний суперфосфат і/або поліфосфат амонію. Усі з цих добрив одержують шляхом хімічної обробки нерозчинних природних фосфоритів на устаткуванні для виробництва добрив у промисловому масштабі, і цей продукт є дорогим. За допомогою даного розкриття можливе зменшення кількості цих добрив, внесених у ґрунт, при збереженні такої ж кількості фосфору, що поглинається із ґрунту.

У ще одному варіанті здійснення фосфор може бути одержаний з органічного джерела фосфору. В іншому конкретному варіанті здійснення джерело фосфору може містити в собі органічне добриво. Органічне добриво відноситься до покращувача ґрунту, який одержують із природних джерел, що забезпечує щонайменше мінімальний процентний вміст азоту, фосфату і поташу. Необмежувальні приклади органічних добрив включають рослинні продукти і продукти життєдіяльності тварин, кам'яний пил, морські водорості, інокулянти і покращувачі властивостей добрив. Ці добрива найчастіше є доступними в садових центрах і від компаній-постачальників, що пов'язані із садівництвом. Зокрема, органічне джерело фосфору доступне у вигляді кісткового борошна, м'ясного борошна, гною, компосту, осаду стічних вод або гуано або їхніх комбінацій.

У ще одному варіанті здійснення фосфор може бути одержаний із комбінації джерел фосфору, включаючи без обмеження, фосфорит, добрива, що містять одне або декілька джерел фосфору (наприклад, моноамонійфосфат, діамонійфосфат, монокальційфосфат, суперфосфат, потрійний суперфосфат, поліфосфат амонію тощо), один або декілька органічних джерел фосфору і їхні комбінації.

Біостимулятор(и)

В одному варіанті здійснення композиції, описані в даному документі, можуть додатково містити один або декілька корисних біостимуляторів. Біостимулятори можуть поліпшити метаболічні або фізіологічні процеси, такі як дихання, фотосинтез, засвоєння нуклеїнової кислоти, споживання іонів, доставку поживних речовин або їхні комбінації. Необмежувальні приклади біостимуляторів включають екстракти морських водоростей (наприклад, *Ascorphyllum podosum*), гумінові кислоти (наприклад, гумат калію), фульвокислоти, міо-інозитол, гліцин і їхні комбінації. В іншому варіанті здійснення композиції включають екстракти морських водоростей, гумінові кислоти, фульвокислоти, міо-інозитол, гліцин і їхні комбінації.

Полімер(и)

В одному варіанті здійснення композиції, описані в даному документі, можуть додатково містити один або декілька полімерів. Необмежувальні застосування полімерів у сільськогосподарській галузі включають агрохімічну доставку, видалення важких металів, утримання води й/або подачу води і їхні комбінації. Pousi, et al., Am. J. Agri. & Biol. Sci., 3(1):299-314 (2008). В одному варіанті здійснення один або декілька полімерів являють собою природний полімер (наприклад, агар, крохмаль, альгінат, пектин, целюлозу тощо), синтетичний полімер, полімер, здатний до біорозкладання (наприклад, полікапролактон, полілактид, полі(вініловий спирт) тощо) або їхні комбінації.

Необмежувальний перелік полімерів, застосовуваних для композицій, описаних у даному документі, див. в Pousi, et al., Am. J. Agri. & Biol. Sci., 3(1):299-314 (2008). В одному з варіантів здійснення композиції, описані в цьому документі, містять целюлозу, похідні целюлози, метилцелюлозу, похідні метилцелюлози, крохмаль, агар, альгінат, пектин, полівінілпіролідон і їхні комбінації.

Зволожувальний засіб(и)

В одному варіанті здійснення композиції, описані у даному документі, можуть додатково містити один або декілька зволожувальних засобів. Зволожувальні засоби звичайно використовуються на ґрунтах, зокрема гідрофобних ґрунтах, для поліпшення інфільтрації і/або проникнення води у ґрунт. Зволожувальним засобом можуть бути допоміжний засіб, масло, поверхнево-активна речовина, буфер, підкислювач або їхня комбінація. У варіанті здійснення

зволожувальним засобом є поверхнево-активна речовина. У варіанті здійснення зволожувальним засобом є одна або декілька неіонних поверхнево-активних речовин, одна або декілька аніонних поверхнево-активних речовин або їхня комбінація. У наступному варіанті здійснення зволожувальним засобом є одна або декілька неіонних поверхнево-активних речовин.

Поверхнево-активні речовини, які є придатними для композицій, що розкриваються у цьому документі, представлено у розділі "Поверхнево-активні речовини".

Поверхнево-активна(і) речовина(и)

Поверхнево-активні речовини, що підходять для композицій, описаних у цьому документі, можуть бути неіонними поверхнево-активними речовинами (наприклад, напівполярними, й/або аніонними, й/або катіонними, й/або цвітер-іонними). За допомогою поверхнево-активних речовин можливі зволоження й емульгування ґрунту(ґрунтів) і/або землі(земель). Передбачається, що поверхнево-активні речовини, застосовувані в описаній композиції, мають низьку токсичність відносно будь-яких мікроорганізмів, що містяться в композиції. Крім того, передбачається, що поверхнево-активні речовини, застосовувані в описаній композиції, характеризуються низькою фітотоксичністю (тобто ступенем токсичності речовини або комбінації речовин стосовно рослини). Можна застосовувати одну поверхнево-активну речовину або суміш із декількох поверхнево-активних речовин.

Аніонні поверхнево-активні речовини

Аніонні поверхнево-активні речовини або суміші аніонних і неіоногенних поверхнево-активних речовин також можна використовувати у композиціях. Аніонні поверхнево-активні речовини являють собою поверхнево-активні речовини, у яких гідрофільний фрагмент у водному розчині перебуває в аніонному або негативно зарядженому стані. Композиції, описані в даному документі, можуть містити одну або декілька аніонних поверхнево-активних речовин. Аніонна(і) поверхнево-активна(і) речовина(и) може(можуть) бути або водорозчинними аніонними поверхнево-активними речовинами, водонерозчинними аніонними поверхнево-активними речовинами, або комбінацією водорозчинних аніонних поверхнево-активних речовин і водонерозчинних аніонних поверхнево-активних речовин. Необмежувальні приклади аніонних поверхнево-активних речовин включають сульфонові кислоти, естери сірчаної кислоти, карбонові кислоти і їхні солі. Необмежувальні приклади водорозчинних аніонних поверхнево-активних речовин включають алкілсульфати, алкілефірсульфати, алкіламідоефірсульфати, алкіларилполіефірсульфати, алкіларилсульфати, алкіларилсульфонати, моногліцеридсульфати, алкілсульфонати, алкіламідсульфонати, алкіларилсульфонати, бензолсульфонати, толуолсульфонати, ксилосулфонати, кумолсульфонати, алкілбензолсульфонати, алкілдифенілоксидсульфонат, альфа-олефісульфонати, алкілнафталінсульфонати, сульфонати парафінів, сульфонати лігніну, алкілсульфосукцинати, етоксировані сульфосукцинати, алкілефірсульфосукцинати, алкіламідсульфосукцинати, алкілсульфосукцинамат, алкілсульфоацетати, алкілфосфати, фосфатний естер, алкілефірфосфати, ацилсаркозинати, ацилізетіонати, N-ацилтаурати, N-ацил-N-алкілтаурати, алкілкарбоксилати або їхні комбінації.

Неіоногенні поверхнево-активні речовини

Неіоногенні поверхнево-активні речовини являють собою поверхнево-активні речовини, що характеризуються відсутністю електричного заряду при розчиненні або диспергуванні у водному середовищі. Щонайменше в одному варіанті здійснення композиції, описаної в цьому документі, застосовують одну або декілька неіоногенних поверхнево-активних речовин, оскільки вони забезпечують бажані змочувальні і емульгувальні ефекти і суттєво не інгібують стабільність і активність спори. Неіоногенна(і) поверхнево-активна(і) речовина(и) може(можуть) являти собою або водорозчинні неіоногенні поверхнево-активні речовини, водонерозчинні неіоногенні поверхнево-активні речовини, або комбінацію водорозчинних неіоногенних поверхнево-активних речовин і водонерозчинних неіоногенних поверхнево-активних речовин.

Водонерозчинні неіоногенні поверхнево-активні речовини

Необмежувальні приклади водонерозчинних неіоногенних поверхнево-активних речовин включають алкільні і арильні ефіри гліцерину, гліколеві ефіри, етаноламід, сульфоаніламід, спирти, амід, етоксилати спирту, естери гліцерину, гліколеві естери, етоксилати естера гліцерину і гліколевих естерів, алкілполіглікозиди на основі сахарів, поліоксіетиловані жирні кислоти, конденсати алканоламіну, алканоламід, третинні ацетиленові гліколі, поліоксіетиловані меркаптани, естери карбонових кислот, поліоксіетилен поліоксипропіленгліколі, естери сорбітану і жирних кислот або їхні комбінації. Також включені блок-співполімери EO/PO (EO являє собою етиленоксид, PO являє собою пропіленоксид), полімери і співполімери EO, поліаміни і полівінілпіролідони.

Водорозчинні неіоногенні поверхнево-активні речовини

Необмежувальні приклади водорозчинних неіоногенних поверхнево-активних речовин включають етоксилати спирту сорбітану і жирної кислоти й етоксилати естера сорбітану і жирної кислоти.

5 Комбінація неіоногенних поверхнево-активних речовин

В одному варіанті здійснення композиції, описані в даному документі, містять щонайменше одну або декілька неіоногенних поверхнево-активних речовин. В одному варіанті здійснення композиції містять щонайменше одну нерозчинну у воді неіоногенну поверхнево-активну речовину і щонайменше одну розчинну у воді неіоногенну поверхнево-активну речовину. У ще
10 одному варіанті здійснення композиції містять комбінацію неіоногенних поверхнево-активних речовин, що містять вуглеводневі ланцюги практично однакової довжини.

Інші поверхнево-активні речовини

В іншому варіанті здійснення композиції, описані в цьому документі, також можуть містити кремнійорганічні поверхнево-активні речовини, піногасники на основі силікону, застосовувані у
15 якості поверхнево-активних речовин у піногасниках на основі силікону і мінеральних масел. У ще одному варіанті здійснення композиції, описані у даному документі, також можуть містити солі лужних металів і жирних кислот (наприклад, розчинні у воді солі лужних металів і жирних кислот і/або не розчинні у воді солі лужних металів і жирних кислот).

Засіб(засоби), що запобігає(запобігають) замерзанню

20 В одному варіанті здійснення композиції, описані у даному документі, можуть додатково містити один або декілька засобів, що запобігають замерзанню. Необмежувальні приклади засобів, що запобігають замерзанню, включають етиленгліколь, пропіленгліколь, сечовину, гліцерин і їхні комбінації.

СПОСОБИ

25 У іншому аспекті розкрито способи застосування однієї або декількох сполук, що стабілізують мікроби, для підвищення виживаності одного або декількох мікроорганізмів. У конкретному варіанті здійснення спосіб включає додавання однієї або декількох сполук, що стабілізують мікроби, описаних у даному документі, до суміші, що містить одну або декілька протимікробних сполук, для інгібування протимікробної активності протимікробної сполуки. У ще
30 одному варіанті здійснення спосіб включає стадію додавання одного або декількох мікроорганізмів до суміші. У ще одному варіанті здійснення один або декілька мікроорганізмів, що додають до суміші, є одним або декількома корисними мікроорганізмами. У конкретному варіанті здійснення сумішшю є композиція для обробки насіння.

Більш того, спосіб застосування однієї або декількох сполук, що стабілізують мікроби, для
35 підвищення виживаності одного або декількох мікроорганізмів додатково включає стадію додавання одного або декількох корисних із сільськогосподарської точки зору інгредієнтів, описаних у даному документі. У одному варіанті здійснення стадію додавання одного або декількох корисних із сільськогосподарської точки зору інгредієнтів можна здійснювати перед, після або одночасно зі стадією додавання однієї або декількох сполук, що стабілізують мікроби,
40 до суміші. У ще одному варіанті здійснення стадію додавання одного або декількох корисних із сільськогосподарської точки зору інгредієнтів можна здійснювати перед, після або одночасно зі стадією додавання одного або декількох мікробів до суміші.

НАНЕСЕННЯ ПОКРИТТІВ НА НАСІННЯ

45 У іншому аспекті насіння покривають однією або декількома композиціями, описаними в даному документі.

В іншому варіанті здійснення спосіб додатково включає спосіб нанесення покриття на насіння, що передбачає додавання однієї або декількох сполук, що стабілізують мікроби, описаних у даному документі, до суміші, що містить одну або декілька протимікробних сполук для інгібування протимікробної активності протимікробної сполуки, додавання одного або
50 декількох мікроорганізмів до суміші і застосування суміші стосовно насіння. У ще одному варіанті здійснення один або декілька мікроорганізмів, що додають до суміші, є одним або декількома корисними мікроорганізмами. У конкретному варіанті здійснення сумішшю є композиція для обробки насіння.

Стадію застосування можна виконувати за допомогою будь-якого способу, відомого з рівня
55 техніки. Необмежувальні приклади застосування стосовно насіння включають без обмеження обприскування насіння, вимочування насіння, краплинну обробку насіння, посипання насіння, заливання насіння й/або нанесення покриття на насіння. У більш конкретному варіанті здійснення стадією застосування є стадія нанесення покриття на насіння. У додатковому варіанті здійснення стадію застосування повторюють (наприклад, більше одного разу, тобто
60 стадію забезпечення контакту повторюють двічі, три рази, чотири рази, п'ять разів, шість разів,

сім разів, вісім разів, дев'ять разів, десять разів тощо).

Більше того, спосіб нанесення покриття на насіння додатково включає стадію додавання одного або декількох корисних із сільськогосподарської точки зору інгредієнтів, описаних у даному документі. У одному варіанті здійснення стадію додавання одного або декількох корисних із сільськогосподарської точки зору інгредієнтів можна здійснювати перед, після або одночасно зі стадією додавання суміші однієї або декількох протимікробних сполук для інгібування протимікробної активності протимікробної сполуки. У ще одному варіанті здійснення стадію додавання одного або декількох корисних із сільськогосподарської точки зору інгредієнтів можна здійснювати перед, після або одночасно зі стадією додавання одного або декількох мікроорганізмів у суміш. У ще одному варіанті здійснення стадію додавання одного або декількох корисних із сільськогосподарської точки зору інгредієнтів можна здійснювати перед, після або одночасно зі стадією застосування суміші стосовно насіння.

У одному варіанті здійснення насіння можна обробляти композицією(ями), описаною(ими) у даному документі, декількома способами, але переважно шляхом обприскування або краплинної обробки. Обприскування і краплинна обробка можуть бути проведені шляхом складання композицій, описаних у даному документі, й обприскування або краплинної обробки композицією(ями) стосовно насіння(насіння) за допомогою безперервної системи подачі (яку калібрують для проведення обробки на попередньо визначеній швидкості пропорційно безперервному потоку насіння), такої як установка барабанного типу. Також можуть застосовуватися системи для роботи з партіями, у яких попередньо визначений обсяг партії насіння і композиції(ій), описаної(их) у даному документі, подають у змішувач. Системи і апарати для здійснення даних способів є комерційно доступними від численних постачальників, наприклад, Bayer CropScience (Gustafson).

В іншому варіанті здійснення обробка передбачає нанесення покриття на насіння. Один такий спосіб передбачає покриття внутрішньої стінки сферичного контейнера композицією(ями), описаною(ими) у даному документі, додавання насіння, потім обертання контейнера для забезпечення контакту насіння зі стінкою і композицією(ями), причому спосіб є відомим з рівня техніки як "нанесення покриття за допомогою контейнера". На насіння можна наносити покриття за допомогою комбінацій способів нанесення покриття. Замочування зазвичай спричиняє застосування рідких форм описуваних композицій. Наприклад, насіння може бути замочене протягом від приблизно 1 хвилини до приблизно 24 годин (наприклад, щонайменше 1 хв., 5 хв., 10 хв., 20 хв., 40 хв., 80 хв., 3 год., 6 год., 12 год., 24 год.).

Варіанти здійснення даного розкриття додатково визначені за допомогою наступних пронумерованих пунктів.

1. Спосіб збільшення виживаності одного або декількох корисних мікроорганізмів, що включає додавання в композицію для обробки насіння однієї або декількох сполук, які стабілізують мікроби, що інгібують протимікробну активність однієї або декількох протимікробних сполук.

2. Спосіб за пунктом 1, де спосіб додатково включає стадію додавання одного або декількох корисних мікроорганізмів у композицію для обробки насіння.

3. Спосіб за пунктами 1 або 2, де одним або декількома корисними мікроорганізмами є азотфіксувальний мікроорганізм, фосфатсолубілізувальний мікроорганізм або їхня комбінація.

4. Спосіб за пунктом 1 або 2, де одним або декількома корисними мікроорганізмами є азотфіксувальний мікроорганізм.

5. Спосіб за пунктом 1 або 2, де одним або декількома корисними мікроорганізмами є фосфатсолубілізувальний мікроорганізм.

6. Спосіб за пунктами 3-4, де азотфіксувальний мікроорганізм являє собою вид, що належить до *Rhizobia*, вибраний із групи, що складається з *Rhizobium* spp., *Bradyrhizobium* spp., *Azorhizobium* spp., *Sinorhizobium* spp., *Mesorhizobium* spp., *Azospirillum* spp. і їхніх комбінацій.

7. Спосіб за пунктом 6, де азотфіксувальний мікроорганізм являє собою вид бактерій, вибраний із групи, що складається з *Rhizobium cellulosilyticum*, *Rhizobium daejeonense*, *Rhizobium etli*, *Rhizobium galegae*, *Rhizobium gallicum*, *Rhizobium giardinii*, *Rhizobium hainanense*, *Rhizobium huautlense*, *Rhizobium indigoferae*, *Rhizobium leguminosarum*, *Rhizobium loessense*, *Rhizobium lupini*, *Rhizobium lusitanum*, *Rhizobium meliloti*, *Rhizobium mongolense*, *Rhizobium miluonense*, *Rhizobium sullae*, *Rhizobium tropici*, *Rhizobium undicola*, *Rhizobium yanglingense*, *Bradyrhizobium betae*, *Bradyrhizobium canariense*, *Bradyrhizobium elkanii*, *Bradyrhizobium iriomotense*, *Bradyrhizobium japonicum*, *Bradyrhizobium jicamae*, *Bradyrhizobium liaoningense*, *Bradyrhizobium pachyrhizi*, *Bradyrhizobium yuanmingense*, *Azorhizobium caulinodans*, *Azorhizobium doebereineriae*, *Sinorhizobium abri*, *Sinorhizobium adhaerens*, *Sinorhizobium americanum*, *Sinorhizobium aboris*, *Sinorhizobium fredii*, *Sinorhizobium indiane*, *Sinorhizobium kostense*,

Sinorhizobium kummerowiae, Sinorhizobium medicae, Sinorhizobium meliloti, Sinorhizobium mexicanus, Sinorhizobium morelense, Sinorhizobium saheli, Sinorhizobium terangae, Sinorhizobium xinjiangense, Mesorhizobium albiziae, Mesorhizobium amorphae, Mesorhizobium chacoense, Mesorhizobium ciceri, Mesorhizobium huakuii, Mesorhizobium loti, Mesorhizobium mediterraneum, Mesorhizobium pluifarium, Mesorhizobium septentrionale, Mesorhizobium temperatum, Mesorhizobium tianshanense, Azospirillum amazonense, Azospirillum brasilense, Azospirillum canadense, Azospirillum doebereineriae, Azospirillum formosense, Azospirillum halopraeferans, Azospirillum irakense, Azospirillum largimobile, Azospirillum lipoferum, Azospirillum melinis, Azospirillum oryzae, Azospirillum picis, Azospirillum rugosum, Azospirillum thiophilum, Azospirillum zeae і їхніх комбінацій.

8. Спосіб за пунктами 3 або 5, де фосфатсолюбілізувальний мікроорганізм являє собою вид, вибраний із групи, що складається з *Acinetobacter* spp., *Arthrobacter* spp., *Arthrobotrys* spp., *Aspergillus* spp., *Azospirillum* spp., *Bacillus* spp., *Burkholderia* spp., *Candida* spp., *Chryseomonas* spp., *Enterobacter* spp., *Eupenicillium* spp., *Exiguobacterium* spp., *Klebsiella* spp., *Kluyvera* spp., *Microbacterium* spp., *Mucor* spp., *Paecilomyces* spp., *Paenibacillus* spp., *Penicillium* spp., *Pseudomonas* spp., *Serratia* spp., *Stenotrophomonas* spp., *Streptomyces* spp., *Streptosporangium* spp., *Swaminathania* spp., *Thiobacillus* spp., *Torulospira* spp., *Vibrio* spp., *Xanthobacter* spp., *Xanthomonas* spp. і їхніх комбінацій.

9. Спосіб за пунктом 8, де фосфатсолюбілізувальний мікроорганізм являє собою вид *Penicillium* spp., вибраний із групи, що складається з *Penicillium bilaiae*, *Penicillium albidum*, *Penicillium aurantiogriseum*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium citreonigrum*, *Penicillium citrinum*, *Penicillium digitatum*, *Penicillium frequentas*, *Penicillium fuscum*, *Penicillium gaestrivorus*, *Penicillium glabrum*, *Penicillium griseofulvum*, *Penicillium implicatum*, *Penicillium janthinellum*, *Penicillium lilacinum*, *Penicillium minioluteum*, *Penicillium montanense*, *Penicillium nigricans*, *Penicillium oxalicum*, *Penicillium pinetorum*, *Penicillium pinophilum*, *Penicillium purpurogenum*, *Penicillium radicans*, *Penicillium radicum*, *Penicillium raistrickii*, *Penicillium rugulosum*, *Penicillium simplicissimum*, *Penicillium solitum*, *Penicillium variable*, *Penicillium velutinum*, *Penicillium viridicatum*, *Penicillium glaucum*, *Penicillium fusicarpum*, *Penicillium expansum* і їхніх комбінацій.

10. Спосіб за пунктом 1, де одна або декілька сполук, що стабілізують мікроби являють собою сполуку, вибрану із групи, що складається із дріжджового екстракту, казеїнату кальцію, молока, сечовини, гематинових засобів, м'ясного екстракту, аміаку, амінокислот, солей амонію, солей тривалентного заліза, солей двовалентного заліза, глюконолактону, глутатіону, лецитину, полісорбатів, альбуміну, пептонів і їхніх комбінацій.

11. Спосіб за пунктом 1, де одна або декілька протимікробних сполук являють собою бактеріостат, бактерицид або їхню комбінацію.

12. Спосіб за пунктом 11, де бактерицид являє собою дезінфекційний засіб, антисептичний засіб або антибіотик.

13. Спосіб за пунктом 12 засіб, де дезінфекційний засіб, вибраний із групи, яка складається з активного хлору, активного кисню, йоду, спиртів, фенольних речовин, катіонних поверхнево-активних речовин, сильних окисників, важких металів і їхніх солей, кислот і лугів.

14. Спосіб за пунктом 12, де антисептичний засіб вибраний із групи, що складається із хлорних препаратів, йодних препаратів, пероксидів, спиртів, органічних кислот, фенольних сполук, катіоноактивних сполук.

15. Спосіб за пунктом 12, де антибіотик вибраний із групи, що складається з пеніциліну, цефалоспоринів, аміноглікозидних антибіотиків, фторхінолонів, нітрофуранів, ванкоміцину, монобактамів, котримоксазолу і метронідазолу.

16. Спосіб за пунктом 11, де бактеріостат являє собою азид натрію або тимеросол.

17. Спосіб за пунктом 1, де одна або декілька протимікробних сполук вибрані із групи, що складається з формальдегіду, бензилгеміформалю (фенілметоксиметанолу), 2-бром-2-нітро-1,3-пропандіолу, 1-(3-хлораліл)-3,5,7-триаза-1-азоніадамантихлориду, дибромнітрилопропіонамід, 1,2-бензізотіазолін-3-ону, 5-хлор-2-метил-4-ізотіазолін-3-ону, 2-метил-4-ізотіазолін-3-ону, діазолідинілу сечовини, трис(гідроксиметил)нітрометану, о-фенілфенату натрію, арсенатів міді, оксиду міді, сполук арсену, міді, ртуті, сполук четвертинного амонію, азиду натрію, тимеросолу або їхніх комбінацій.

18. Спосіб за пунктом 1, де спосіб додатково включає стадію додавання одного або декількох корисних із сільськогосподарської точки зору інгредієнтів.

19. Спосіб за пунктом 18, де додавання одного або декількох корисних із сільськогосподарської точки зору інгредієнтів здійснюють після стадії додавання в композицію для обробки насіння однієї або декількох сполук, які стабілізують мікроби, що інгібують протимікробну активність однієї або декількох протимікробних сполук.

20. Спосіб за пунктом 2, де додавання одного або декількох корисних із сільськогосподарської точки зору інгредієнтів здійснюють після стадії додавання одного або декількох корисних мікроорганізмів у композицію для обробки насіння.

21. Спосіб за пунктом 18, де додавання одного або декількох корисних із сільськогосподарської точки зору інгредієнтів здійснюють одночасно зі стадією додавання в композицію для обробки насіння однієї або декількох сполук, які стабілізують мікроби, що інгібують протимікробну активність однієї або декількох протимікробних сполук.

22. Спосіб за пунктом 20, де додавання одного або декількох корисних із сільськогосподарської точки зору інгредієнтів здійснюють одночасно зі стадією додавання в композицію для обробки насіння одного або декількох корисних мікроорганізмів.

23. Спосіб за пунктами 18-22, де один або декілька корисних із сільськогосподарської точки зору інгредієнтів являють собою одну або декілька сигнальних молекул рослини, вибраних із групи, що складається з ліпохітоолігосахаридів, (LCO), хітоолігосахаридів (CO), хітинових сполук, флавоноїдів, жасмонової кислоти, метилжасмонату, лінолевої кислоти, ліноленової кислоти, карикінів і їхніх комбінацій.

24. Спосіб за п. 23, де один або декілька корисних із сільськогосподарської точки зору інгредієнтів містять один або декілька CO.

25. Спосіб за п. 23, де один або декілька корисних із сільськогосподарської точки зору інгредієнтів містять один або декілька LCO.

26. Спосіб за п. 23, де один або декілька корисних із сільськогосподарської точки зору інгредієнтів містять один або декілька флавоноїдів.

27. Спосіб нанесення покриття на насіння, що включає застосування композиції для обробки насіння стосовно насіння, де композиція для обробки насіння містить один або декілька корисних мікроорганізмів і одну або декілька сполук, які стабілізують мікроби, що інгібують протимікробну активність одного або декількох протимікробних сполук.

28. Спосіб за пунктом 27, де один або декілька корисних мікроорганізмів являють собою азотфіксувальний мікроорганізм, фосфатсолюбілізувальний мікроорганізм або їхню комбінацію.

29. Спосіб за пунктом 27, де один або декілька корисних мікроорганізмів являють собою азотфіксувальний мікроорганізм.

30. Спосіб за пунктом 27, де один або декілька корисних мікроорганізмів являють собою фосфатсолюбілізувальний мікроорганізм.

31. Спосіб за пунктом 29, де азотфіксувальний мікроорганізм являє собою вид, що належить до *Rhizobia*, вибраний із групи, що складається з *Rhizobium* spp., *Bradyrhizobium* spp., *Azorhizobium* spp., *Sinorhizobium* spp., *Mesorhizobium* spp., *Azospirillum* spp. і їхніх комбінацій.

32. Спосіб за пунктом 31, де азотфіксувальний мікроорганізм являє собою вид бактерій, вибраний із групи, що складається з *Rhizobium cellulosilyticum*, *Rhizobium daejeonense*, *Rhizobium etli*, *Rhizobium galegae*, *Rhizobium gallicum*, *Rhizobium giardinii*, *Rhizobium hainanense*, *Rhizobium huautlense*, *Rhizobium indigoferae*, *Rhizobium leguminosarum*, *Rhizobium loessense*, *Rhizobium lupini*, *Rhizobium lusitanum*, *Rhizobium meliloti*, *Rhizobium mongolense*, *Rhizobium miluonense*, *Rhizobium sullae*, *Rhizobium tropici*, *Rhizobium undicola*, *Rhizobium yanglingense*, *Bradyrhizobium betae*, *Bradyrhizobium canariense*, *Bradyrhizobium elkanii*, *Bradyrhizobium iriomotense*, *Bradyrhizobium japonicum*, *Bradyrhizobium jicamae*, *Bradyrhizobium liaoningense*, *Bradyrhizobium pachyrhizi*, *Bradyrhizobium yuanmingense*, *Azorhizobium caulinodans*, *Azorhizobium doebereineriae*, *Sinorhizobium abri*, *Sinorhizobium adhaerens*, *Sinorhizobium americanum*, *Sinorhizobium aboris*, *Sinorhizobium fredii*, *Sinorhizobium indiaense*, *Sinorhizobium kostiense*, *Sinorhizobium kummerowiae*, *Sinorhizobium medicae*, *Sinorhizobium meliloti*, *Sinorhizobium mexicanus*, *Sinorhizobium morelense*, *Sinorhizobium saheli*, *Sinorhizobium terangae*, *Sinorhizobium xinjiangense*, *Mesorhizobium albisiae*, *Mesorhizobium amorphae*, *Mesorhizobium chacoense*, *Mesorhizobium ciceri*, *Mesorhizobium huakuii*, *Mesorhizobium loti*, *Mesorhizobium mediterraneum*, *Mesorhizobium pluifarium*, *Mesorhizobium septentrionale*, *Mesorhizobium temperatum*, *Mesorhizobium tianshanense*, *Azospirillum amazonense*, *Azospirillum brasiliense*, *Azospirillum canadense*, *Azospirillum doebereineriae*, *Azospirillum formosense*, *Azospirillum halopraeferans*, *Azospirillum irakense*, *Azospirillum largimobile*, *Azospirillum lipoferum*, *Azospirillum melinis*, *Azospirillum oryzae*, *Azospirillum picis*, *Azospirillum rugosum*, *Azospirillum thiophilum*, *Azospirillum zeae* і їхніх комбінацій.

33. Спосіб за пунктом 30, де фосфатсолюбілізувальний мікроорганізм являє собою вид, вибраний із групи, що складається з *Acinetobacter* spp., *Arthrobacter* spp., *Arthrobotrys* spp., *Aspergillus* spp., *Azospirillum* spp., *Bacillus* spp., *Burkholderia* spp., *Candida* spp., *Chryseomonas* spp., *Enterobacter* spp., *Eupenicillium* spp., *Exiguobacterium* spp., *Klebsiella* spp., *Kluyvera* spp., *Microbacterium* spp., *Mucor* spp., *Paecilomyces* spp., *Paenibacillus* spp., *Penicillium* spp.,

Pseudomonas spp., *Serratia* spp., *Stenotrophomonas* spp., *Streptomyces* spp., *Streptosporangium* spp., *Swaminathania* spp., *Thiobacillus* spp., *Torulospora* spp., *Vibrio* spp., *Xanthobacter* spp., *Xanthomonas* spp. і їхніх комбінацій.

34. Спосіб за пунктом 33, де фосфатсолюбілізувальний мікроорганізм являє собою вид *Penicillium* spp., вибраний із групи, що складається з *Penicillium bilaiae*, *Penicillium albidum*, *Penicillium aurantiogriseum*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium citreonigrum*, *Penicillium citrinum*, *Penicillium digitatum*, *Penicillium frequentas*, *Penicillium fuscum*, *Penicillium gaestrivorus*, *Penicillium glabrum*, *Penicillium griseofulvum*, *Penicillium implicatum*, *Penicillium janthinellum*, *Penicillium lilacinum*, *Penicillium minioluteum*, *Penicillium montanense*, *Penicillium nigricans*, *Penicillium oxalicum*, *Penicillium pinetorum*, *Penicillium pinophilum*, *Penicillium purpurogenum*, *Penicillium radicans*, *Penicillium radicum*, *Penicillium raistrickii*, *Penicillium rugulosum*, *Penicillium simplicissimum*, *Penicillium solitum*, *Penicillium variabile*, *Penicillium velutinum*, *Penicillium viridicatum*, *Penicillium glaucum*, *Penicillium fusisporus*, *Penicillium expansum* і їхніх комбінацій.

35. Спосіб за пунктом 27, де одна або декілька сполук, що стабілізують мікроби являють собою сполуку, вибрану із групи, що складається із дріжджового екстракту, казеїнату кальцію, молока, сечовини, гематинових засобів, м'ясного екстракту, аміаку, амінокислот, солей амонію, солей тривалентного заліза, солей двовалентного заліза, глюконолактону, глутатіону, лецитину, полісорбатів, альбуміну, пептонів і їхніх комбінацій.

36. Спосіб за пунктом 27, де одна або декілька протимікробних сполук являють собою бактеріостат, бактерицид або їхню комбінацію.

37. Спосіб за пунктом 36, де бактерицид являє собою дезінфекційний засіб, антисептичний засіб або антибіотик.

38. Спосіб за пунктом 37, дезінфекційний засіб вибраний із групи, що складається з активного хлору, активного кисню, йоду, спиртів, фенольних речовин, катіонних поверхнево-активних речовин, сильних окисників, важких металів і їхніх солей, кислот і лугів.

39. Спосіб за пунктом 37, де антисептичний засіб вибраний із групи, що складається із хлорних препаратів, йодних препаратів, пероксидів, спиртів, органічних кислот, фенольних сполук, катіоноактивних сполук.

40. Спосіб за пунктом 37, де антибіотик вибраний із групи, що складається з пеніциліну, цефалоспоринів, аміноглікозидних антибіотиків, фторхінолонів, нітрофуранів, ванкоміцину, монобактамів, котримоксазолу і метронідазолу.

41. Спосіб за пунктом 36, де бактеріостат являє собою азид натрію або тимеросол.

42. Спосіб за пунктом 27, де одна або декілька протимікробних сполук вибрані із групи, що складається з формальдегіду, бензилгеміформалю (фенілметоксиметанолу), 2-бром-2-нітро-1,3-пропандіолу, 1-(3-хлораліл)-3,5,7-триаза-1-азоніадамантанхлориду, дибромнітрилопропіонамід, 1,2-бензізотіазолін-3-ону, 5-хлор-2-метил-4-ізотіазолін-3-ону, 2-метил-4-ізотіазолін-3-ону, діазолідинілу сечовини, трис(гідроксиметил)нітрометану, о-фенілфенату натрію, арсенатів міді, оксиду міді, сполук арсену, міді, ртуті, сполук четвертинного амонію, азиду натрію, тимеросолу або їхніх комбінацій.

43. Спосіб за пунктом 27, де спосіб додатково включає стадію додавання одного або декількох корисних із сільськогосподарської точки зору інгредієнтів.

44. Спосіб за пунктом 43, де додавання одного або декількох корисних із сільськогосподарської точки зору інгредієнтів здійснюють після стадії застосування композиції для обробки насіння стосовно насіння, де композиція для обробки насіння містить один або декілька корисних мікроорганізмів і одну або декілька сполук, які стабілізують мікроби, що інгібують протимікробну активність однієї або декількох протимікробних сполук.

45. Спосіб за пунктом 43, де додавання одного або декількох корисних із сільськогосподарської точки зору інгредієнтів здійснюють одночасно зі стадією застосування композиції для обробки насіння стосовно насіння, де композиція для обробки насіння містить один або декілька корисних мікроорганізмів і одну або декілька сполук, які стабілізують мікроби, що інгібують протимікробну активність однієї або декількох протимікробних сполук.

46. Спосіб за пунктами 43-45, де один або декілька корисних із сільськогосподарської точки зору інгредієнтів являють собою одну або декілька сигнальних молекул рослини, вибраних із групи, що складається з LCO, CO, хітинових сполук, флавоноїдів, жасмонової кислоти, метилжасмонату, лінолевої кислоти, ліноленової кислоти, карикінів і їхніх комбінацій.

47. Спосіб за п. 46, де один або декілька корисних із сільськогосподарської точки зору інгредієнтів містять один або декілька CO.

48. Спосіб за п. 46, де один або декілька корисних із сільськогосподарської точки зору інгредієнтів містять один або декілька LCO.

49. Спосіб за п. 46, де один або декілька корисних із сільськогосподарської точки зору

інгредієнтів містять один або декілька флавоноїдів.

50. Композиція, що містить

1) щонайменше одну сполуку, що включає одну або декілька сполук, що стабілізують мікроби; і

5 2) щонайменше один другий інгредієнт, вибраний із груп (A) - (F):

(A) фунгіцид;

(B) інсектицид;

(C) нематоцид;

(D) акарицид;

10 (E) гербіцид і

(F) добриво.

51. Композиція за пунктом 50, де одна або декілька сполук, що стабілізують мікроби, являють собою сполуку, вибрану із групи, що складається із дріжджового екстракту, казеїнату кальцію, молока, сечовини, гематинових засобів, м'ясного екстракту, аміаку, амінокислот, солей амонію, солей тривалентного заліза, солей двовалентного заліза, глюконолактону, глутатіону, лецитину, полісорбатів, альбуміну, пептонів і їхніх комбінацій.

52. Композиція за пунктом 50, де щонайменше один другий інгредієнт, вибраний із груп (A) - (F), містить одну або декілька протимікробних сполук.

53. Композиція за пунктом 52, де одна або декілька протимікробних сполук являють собою бактеріостат, бактерицид або їхню комбінацію.

54. Композиція за пунктом 53, де бактерицид являє собою дезінфекційний засіб, антисептичний засіб або антибіотик.

55. Композиція за пунктом 54, де дезінфекційний засіб вибраний із групи, що складається з активного хлору, активного кисню, йоду, спиртів, фенольних речовин, катіонних поверхнево-активних речовин, сильних окисників, важких металів і їхніх солей, кислот і лугів.

56. Композиція за пунктом 54, де антисептичний засіб вибраний із групи, що складається із хлорних препаратів, йодних препаратів, пероксидів, спиртів, органічних кислот, фенольних сполук, катіоноактивних сполук.

57. Композиція за пунктом 54, де антибіотик вибраний із групи, що складається з пеніциліну, цефалоспоринів, аміноглікозидних антибіотиків, фторхінолонів, нітрофуранів, ванкоміцину, монобактамів, котримоксазолу і метронідазолу.

58. Композиція за пунктом 53, де бактеріостат являє собою азид натрію або тимеросол.

59. Композиція за пунктом 52, де одна або декілька протимікробних сполук вибрані із групи, що складається з формальдегіду, бензилгеміформалю (фенілметоксиметанолу), 2-бром-2-нітро-1,3-пропандіолу, 1-(3-хлораліл)-3,5,7-триаза-1-азоніадамантанхлориду, 35 дибромнітрилопропіонамід, 1,2-бензізотіазолін-3-ону, 5-хлор-2-метил-4-ізотіазолін-3-ону, 2-метил-4-ізотіазолін-3-ону, діазолідинілу сечовини, трис(гідроксиметил)нітрометану, о-фенілфенату натрію, арсенатів міді, оксиду міді, сполук арсену, міді, ртуті, сполук четвертинного амонію, азиду натрію, тимеросолу або їхніх комбінацій.

60. Композиція за пунктом 50, де композиція додатково містить один або декілька корисних із сільськогосподарської точки зору інгредієнтів.

61. Композиція за пунктом 60, де один або декілька корисних із сільськогосподарської точки зору інгредієнтів являють собою одну або декілька сигнальних молекул рослини, вибраних із групи, що складається з LCO, CO, хітинових сполук, флавоноїдів, жасмонової кислоти, метилжасмонату, лінолевої кислоти, ліноленової кислоти, карикінів і їхніх комбінацій.

62. Композиція за пунктом 61, де один або декілька корисних із сільськогосподарської точки зору інгредієнтів містять один або декілька CO.

63. Композиція за пунктом 61, де один або декілька корисних із сільськогосподарської точки зору інгредієнтів містять один або декілька LCO.

64. Композиція за пунктом 61, де один або декілька корисних із сільськогосподарської точки зору інгредієнтів містять один або декілька флавоноїдів.

65. Композиція за пунктом 61, де композиція додатково містить один або декілька корисних мікроорганізмів.

66. Композиція за пунктом 65, де один або декілька корисних мікроорганізмів являють собою азотфіксувальний мікроорганізм, фосфатсолубілізуювальний мікроорганізм або їхню комбінацію.

67. Композиція за пунктом 66, де один або декілька корисних мікроорганізмів являють собою азотфіксувальний мікроорганізм.

68. Композиція за пунктом 66, де один або декілька корисних мікроорганізмів являють собою фосфатсолубілізуювальний мікроорганізм.

69. Композиція за пунктами 66-67, де азотфіксувальний мікроорганізм являє собою вид, що

належить до Rhizobia, вибраний із групи, що складається з *Rhizobium* spp., *Bradyrhizobium* spp., *Azorhizobium* spp., *Sinorhizobium* spp., *Mesorhizobium* spp., *Azospirillum* spp. і їхніх комбінацій.

70. Композиція за пунктом 69, де азотфіксувальний мікроорганізм являє собою вид бактерій, вибраний із групи, що складається з *Rhizobium cellulosilyticum*, *Rhizobium daejeonense*, *Rhizobium etli*, *Rhizobium galegae*, *Rhizobium gallicum*, *Rhizobium giardinii*, *Rhizobium hainanense*, *Rhizobium huautlense*, *Rhizobium indigoferae*, *Rhizobium leguminosarum*, *Rhizobium loessense*, *Rhizobium lupini*, *Rhizobium lusitanum*, *Rhizobium meliloti*, *Rhizobium mongolense*, *Rhizobium miluonense*, *Rhizobium sullae*, *Rhizobium tropici*, *Rhizobium undicola*, *Rhizobium yanglingense*, *Bradyrhizobium betae*, *Bradyrhizobium canariense*, *Bradyrhizobium elkanii*, *Bradyrhizobium iriomotense*, *Bradyrhizobium japonicum*, *Bradyrhizobium jicamae*, *Bradyrhizobium liaoningense*, *Bradyrhizobium pachyrhizi*, *Bradyrhizobium yuanmingense*, *Azorhizobium caulinodans*, *Azorhizobium doebereinae*, *Sinorhizobium abri*, *Sinorhizobium adhaerens*, *Sinorhizobium americanum*, *Sinorhizobium aboris*, *Sinorhizobium fredii*, *Sinorhizobium indiaense*, *Sinorhizobium kostiense*, *Sinorhizobium kummerowiae*, *Sinorhizobium medicae*, *Sinorhizobium meliloti*, *Sinorhizobium mexicanus*, *Sinorhizobium morelense*, *Sinorhizobium saheli*, *Sinorhizobium terangae*, *Sinorhizobium xinjiangense*, *Mesorhizobium albisiae*, *Mesorhizobium amorphae*, *Mesorhizobium chacoense*, *Mesorhizobium ciceri*, *Mesorhizobium huakuii*, *Mesorhizobium loti*, *Mesorhizobium mediterraneum*, *Mesorhizobium pluifarium*, *Mesorhizobium septentrionale*, *Mesorhizobium temperatum*, *Mesorhizobium tianshanense*, *Azospirillum amazonense*, *Azospirillum brasilense*, *Azospirillum canadense*, *Azospirillum doebereinae*, *Azospirillum formosense*, *Azospirillum halopraeferans*, *Azospirillum irakense*, *Azospirillum largimobile*, *Azospirillum lipoferum*, *Azospirillum melinis*, *Azospirillum oryzae*, *Azospirillum picis*, *Azospirillum rugosum*, *Azospirillum thiophilum*, *Azospirillum zeae* і їхніх комбінацій.

71. Композиція за пунктами 66 або 68, де фосфатсолюбілізувальний мікроорганізм являє собою вид, вибраний із групи, що складається з *Acinetobacter* spp., *Arthrobacter* spp., *Arthrobotrys* spp., *Aspergillus* spp., *Azospirillum* spp., *Bacillus* spp., *Burkholderia* spp., *Candida* spp., *Chryseomonas* spp., *Enterobacter* spp., *Eupenicillium* spp., *Exiguobacterium* spp., *Klebsiella* spp., *Kluyvera* spp., *Microbacterium* spp., *Mucor* spp., *Paecilomyces* spp., *Paenibacillus* spp., *Penicillium* spp., *Pseudomonas* spp., *Serratia* spp., *Stenotrophomonas* spp., *Streptomyces* spp., *Streptosporangium* spp., *Swaminathanian* spp., *Thiobacillus* spp., *Torulospora* spp., *Vibrio* spp., *Xanthobacter* spp., *Xanthomonas* spp. і їхніх комбінацій.

72. Композиція за пунктом 71, де фосфатсолюбілізувальний мікроорганізм являє собою вид, що належить до *Penicillium* spp., вибраний із групи, що складається з *Penicillium bilaiae*, *Penicillium albidum*, *Penicillium aurantiogriseum*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium citreonigrum*, *Penicillium citrinum*, *Penicillium digitatum*, *Penicillium frequentas*, *Penicillium fuscum*, *Penicillium gastrivorus*, *Penicillium glabrum*, *Penicillium griseofulvum*, *Penicillium implicatum*, *Penicillium janthinellum*, *Penicillium lilacinum*, *Penicillium minioluteum*, *Penicillium montanense*, *Penicillium nigricans*, *Penicillium oxalicum*, *Penicillium pinetorum*, *Penicillium pinophilum*, *Penicillium purpurogenum*, *Penicillium radicans*, *Penicillium radicum*, *Penicillium raistrickii*, *Penicillium rugulosum*, *Penicillium simplicissimum*, *Penicillium solitum*, *Penicillium variabile*, *Penicillium velutinum*, *Penicillium viridicatum*, *Penicillium glaucum*, *Penicillium fussiporus*, *Penicillium expansum* і їхніх комбінацій.

ПРИКЛАДИ

Наступні приклади наведені в ілюстративних цілях і не призначені для обмеження обсягу варіантів здійснення, заявлених у даному документі. Будь-які варіації в проілюстрованих прикладах, які приходять на думку фахівцям у даній галузі, призначені для включення в обсяг даного розкриття.

Матеріали

Yem-Agar (г/л)
маніт (10,0)
K ₂ HPO ₄ (0,5)
дріжджовий екстракт (0,5)
MgSO ₄ ·7H ₂ O, (0,2)
NaCl (0,007)

YEM-PCNB - конго червоний - агар з ванкоміцином (г/л)
маніт (10,0)
K ₂ HPO ₄ (0,5)
дріжджовий екстракт (0,5)

MgSO ₄ ·7H ₂ O, (0,2)
NaCl (0,007)
конго червоний (0,04)
PCNB (0,2)
ванкоміцин (0,001)

Сольовий розчин*
NaCl, 8,5 г
дистильована H ₂ O

*Стерилізований за допомогою обробки в автоклаві

Мікроби
SEMIA 587 <i>Bradyrhizobium elkanii</i>
SEMIA 5019 <i>Bradyrhizobium elkanii</i>
SEMIA 5079 <i>Bradyrhizobium japonicum</i>
SEMIA 5080 <i>Bradyrhizobium japonicum</i>

5 Приклад 1

Активність двох сполук, що стабілізують мікроби, дріжджового екстракту й альбуміну тестували відносно зниження ефектів консерванту бензилгеміформалю (при концентрації, що відбиває передбачену діючою рекомендацією для комерційного інсектициду, який включає цей консервант).

- 10 Із застосуванням асептичних методик 10 мл комерційного рідкого інокулянту, що містить SEMIA 587 *B. elkanii* і SEMIA 5019 *B. elkanii* (Nitragin Optimize II, комерційно доступний від Novozymes), переносили в комплект стерильних пробірок, у які додавали 0,7 мл 2 % розчину, що містить бензилгеміформаль, і у відповідні пробірки вносили 0,3 г дріжджового екстракту (комерційно доступного від Merck) або 0,3 г альбуміну (комерційно доступного від SIGMA).
- 15 Контроль бактеріальної живучості, що складається з інокулянтів без сполук, що стабілізують мікроби, тестували для порівняння. Обробки наведені в таблиці 1.

Таблиця 1.

Обробки

Обробка	Інокулянт	Бензилгеміформаль (кінцева концентрація)	Дріжджовий екстракт (кінцева концентрація)	Альбумін (кінцева концентрація)
1	10 мл	0,14 % вага/об.		
2	10 мл	0,14 % вага/об.	0,03 % вага/об.	
3	10 мл	0,14 % вага/об.		0,03 % вага/об.
4	10 мл			

- 20 Пробірки перемішували із застосуванням вихрового змішувача, переносили в орбітальний струшувач при 30 °С. Через 20 хвилин інкубування (момент часу 0) відбирали 0,1 мл зразків і звичайним способом розводили 1/10 у комплекті пробірок, що містять 0,9 мл стерильного сольового розчину (0,85 % NaCl у дистильованій воді). 0,1 мл розведень 10⁻⁵, 10⁻⁶ і 10⁻⁷ висівали у трьох повторностях на агар із дріжджовим екстрактом і манітом (YEM). Планшети інкубували при 30 °С. Колонії підраховували через сім днів інкубування. Кількість колонієутворюючих
- 25 одиниць на мл (КУО/мл) підраховували з урахуванням розведень при висіванні і об'єму при висіванні. Зразки одержували і обробляли, як зазначено вище, з інтервалами у дві години. Результати наведено у таблиці 2.

Таблиця 2

Ефект дріжджового екстракту й альбуміну на виживаність інокулянту у присутності бензилгеміформалю протягом деякого часу

Обробка	0 годин	2 години	4 години
1	3,00 E+09	1,00 E+08	BDL*
2	4,00 E+09	3,50 E+09	7,00 E+08
3	3,40 E+09	5,50 E+08	5,50 E+07
4	3,40 E+09	3,50 E+09	3,00 E+09

* BDL: нижче за межу виявлення (10^6 КУО/мл)

Як показано у таблиці 2, дріжджовий екстракт й альбумін знижують шкідливі впливи, індуковані присутністю бензилгеміформаль при концентрації, що тестується.

5 Приклад 2

Загальний протокол, описаний у прикладі 1, модифікували для обробки зразків більшого розміру. Комерційний інсектицид, що містить бензилгеміформаль, тестували при концентраціях, які здатні були імітувати рекомендовані дози як для інокулянтів, так і для інсектициду.

10 Стерильні 250 мл колби Ерленмейєра, що містили стерильні магнітні змішувачі, використовували замість пробірок, які тестували. Об'єми кожного розчину наведено у таблиці 3. Комерційний інсектицид переносили в комплект колб Ерленмейєра і встановлені кількості сполук, що стабілізують мікроби (дріжджовий екстракт і пептон із соєвого борошна від Merck і триптофан від Ajinomoto) попередньо перемішували при 250 об./хв. протягом 6 годин.

Таблиця 3.

Обробки

Обробка	Інокулянт (30 мл)	Інсектицид (30 мл)	Дріжджовий екстракт (3 г)	Пептон із соєвого борошна (3 г)	Триптофан (1 г)
1	X	X			
2	X	X	X		
3	X	X		X	
4	X	X			X
5	X				

15

У кожному з відповідних колб Ерленмейєра додавали 30 мл інокулянтів (описаних у прикладі 1), перемішували і одержували зразки, відразу і з інтервалами у 2 години. Зразки обробляли, як описано у прикладі 1. Результати наведено в таблиці 4.

Таблиця 4.

Ефект дріжджового екстракту і пептону із соєвого борошна на виживаність інокулянту у присутності інсектициду, що містить бензилгеміформаль, протягом деякого часу

Обробка	КУО/мл			
	0 годин	2 години	4 години	6 годин
1	2,00 E+09	1,00 E+08	BDL*	BDL*
2	3,30 E+09	3,50 E+09	2,00 E+09	1,00 E+09
3	3,40 E+09	2,20 E+09	3,00 E+09	1,10 E+09
4	4,00 E+09	3,50 E+09	4,20 E+09	3,90 E+09
5	3,40 E+09	4,00 E+09	3,33 E+09	3,30 E+09

20

*BDL: нижче за межу виявлення (10^6 КУО/мл)

Як показано у таблиці 4, дріжджовий екстракт, пептон із соєвого борошна і триптофан знижують шкідливі впливи на мікробну популяцію, індуковані присутністю агрохімікату, що містить бензилгеміформаль.

25 Приклад 3

Дріжджовий екстракт і казеїнат кальцію застосовували в передінокуляційній системі на основі торфу, що містить SEMIA 587 B. elkanii і SEMIA 5019 B. elkanii (Nitragin CTS200, доступний від Novozymes), і тестували на сумісність із агрохімікатом, що містить бензилгеміформаль, для стабільності на поверхні насіння. Обробку насіння здійснювали, дотримуючись протоколу, описаного в даному документі.

30

Дріжджовий екстракт або казеїнат кальцію (від Merck) попередньо перемішували із застосуванням магнітних змішувачів протягом 6 годин з агрохімікатом, що містить бензилгеміформаль. Через 6 годин насіння обробляли. У таблиці 5 описані обробки насіння, із розрахунку на 1 кг насіння.

5

Таблиця 5.

Обробки

	Номер обробки		
	1	2	3
Nitragin CTS200	8,5 г	8,5 г	8,5 г
Інсектицид, що містить бензилгеміформаль	3 мл	3 мл	3 мл
Дріжджовий екстракт		0,3 г	
Казеїнат кальцію			0,3 г

У випадку обробок, що поєднують рідкі інокулянти й інші продукти (фунгіциди, інсектициди тощо), засіб для обробки одержували відповідно до інструкцій і забезпечували відстоювання при кімнатній температурі протягом півгодини перед інокуляцією насіння.

Насіння поміщали в поліетиленовий пакет і додавали засіб для обробки. Насіння повинне було займати 1/3 від загального об'єму пакета (наповненого повітрям і закритого). Вміст пакета енергійно перемішували обертальними рухами для належного розподілу продуктів усередині.

Пакет з інокульованим насінням відкривали, забезпечували осадження при кімнатній температурі протягом 4 годин і здійснювали підрахунки ризобій на насінні. Для цього 100 насінин поміщали у 250 мл колбу Ерленмейєра зі 100 мл сольового розчину і піддавали струшуванню протягом 15 хв із застосуванням магнітного змішувача при близько 300 об./хв. Супернатант позначали "розведення 10⁰". Відбирали 1 мл зразків і звичайним способом 1/10 розчиняли у комплекті пробірок, що містять 9 мл стерильного сольового розчину (0,85 % NaCl у дистильованій воді). 0,1 мл розведень 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³ і 10⁻⁴ висівали у трьох повторностях на агар із дріжджовим екстрактом і манітом (YEM).

Насіння потім поміщали в паперові пакети і тримали в камері при 30 °C до кінця тесту. Визначення повторювали через 24 і 48 годин після інокуляції. Планшети зчитували через сім днів і перевіряли на день 10. На планшетах підраховували від 30 до 300 колоній і перевіряли співвідношення між розведеннями. КУО/насіння підраховували у відповідності до формули (I). Результати наведено в таблиці 6.

Формула (I):

$$\text{КУО/насіння} = \text{к-ть підрахованих колоній} \times 10 \times \text{коефіцієнт розведення}$$

Таблиця 6

Ефект дріжджового екстракту і казеїнату кальцію на виживаність мікробів, що наносяться на насіння при застосуванні протягом деякого часу агрохімікатів, що містять бензилгеміформаль

Обробки	Дні після обробки (30 °C)		
	0	2	5
1	1,00 E+05	1,60 E+03	BDL*
2	5,40 E+05	3,50 E+05	2,30 E+04
3	2,80 E+05	1,20 E+05	8,00 E+03

BDL *: нижче межі виявлення (10² КУО/насіння)

Як показано у таблиці 6, присутність дріжджового екстракту і казеїнату кальцію поліпшують відновлення мікробів на насінинах, оброблених агрохімікатами, що містять бензилгеміформаль.

Приклад 4

Активність двох сполук, що стабілізують мікроби, дріжджового екстракту й альбуміну тестували відносно зниження ефектів консерванту бензилгеміформалю (при концентрації, що відбиває передбачену дією рекомендацією для комерційного інсектициду, який включає цей консервант).

Із застосуванням звичайних асептичних методик 10 мл комерційного рідкого інокулянту, що містить SEMIA 5079 B. japonicum і SEMIA 5080 B. japonicum (Nitragin CellTech HC, комерційно доступний від Novozymes), переносили в комплект стерильних пробірок, у які додавали 0,7 мл 2 % розчину, що містить бензилгеміформаль, і у відповідні пробірки вносили 0,3 г дріжджового екстракту (комерційно доступного від Merck) або 0,3 г альбуміну (комерційно доступного від SIGMA). Контроль бактеріальної живучості, що складається з інокулянтів без сполуки, яка

стабілізує мікроби, тестували для порівняння. Обробки наведено у таблиці 7.

Таблиця 7.

Обробки

Обробка	Інокулянт	Бензилгеміформаль (кінцева концентрація)	Дріжджовий екстракт (кінцева концентрація)	Альбумін (кінцева концентрація)
1	10 мл	0,14 % вага/об.		
2	10 мл	0,14 % вага/об.	0,03 % вага/об.	
3	10 мл	0,14 % вага/об.		0,03 % вага/об.
4	10 мл			

- 5 Пробірки перемішували із застосуванням вихрового змішувача, переносили в орбітальний струшувач при 30 °С. Через 20 хвилин інкубування (момент часу 0) 0,1 мл зразків відбирали і звичайним способом розчиняли 1/10 у комплекті пробірок, що містять 0,9 мл стерильного сольового розчину (0,85 % NaCl у дистильованій воді). 0,1 мл розведень 10^{-5} , 10^{-6} і 10^{-7} висівали у трьох повторностях на агар із дріжджовим екстрактом і манітом (YEM). Планшети інкубували при 30 °С. Колонії підраховували через сім днів інкубування. Кількість колонієутворюючих одиниць на мл (КУО/мл) підраховували з урахуванням розведень при висіванні й обсягу при висіванні. Зразки одержували й обробляли, як зазначено вище, з інтервалами у дві години. Результати зазначено у таблиці 8.

Таблиця 8

Ефект дріжджового екстракту й альбуміну на виживаність інокулянту у присутності бензилгеміформалю протягом деякого часу

Обробка	0 годин	2 години	4 години	6 годин
1	3,10 E+09	1,30 E+08	BDL*	BDL*
2	3,80 E+09	3,30 E+09	5,00 E+08	3,10 E+08
3	3,70 E+09	5,10 E+08	5,50 E+07	3,10 E+07
4	3,40 E+09	3,10 E+09	3,00 E+09	3,30 E+09

- 15 * BDL: нижче межі виявлення (10^6 КУО/мл)
- Як показано у таблиці 8, дріжджовий екстракт й альбумін знижують шкідливі впливи, індуковані присутністю бензилгеміформалю при концентрації, що тестується.
- Приклад 5
- 20 Загальний протокол, описаний у прикладі 4, модифікували для обробки зразків більшого розміру. Комерційний інсектицид, що містить бензилгеміформаль, тестували при концентраціях, які здатні були імітувати рекомендовані дози як для інокулянтів, так і для інсектициду.
- 25 Стерильні 250 мл колби Ерленмейєра, що містять стерильні магнітні змішувачі, використовували замість пробірок, що тестували. Об'єми кожного розчину наведено у таблиці 9. Комерційний інсектицид переносили в комплект колб Ерленмейєра і встановлені кількості сполук, що стабілізують мікроби (дріжджовий екстракт і пептон із соєвого борошна від Merck і триптофан від Ajinomoto) попередньо перемішували при 250 об./хв. протягом 6 годин.

Таблиця 9.

Обробки

Обробка	Інокулянт (30 мл)	Інсектицид (30 мл)	Дріжджовий екстракт (3 г)	Пептон із соєвого борошна (3 г)	Триптофан (1 г)
1	X	X			
2	X	X	X		
3	X	X		X	
4	X	X			X
5	X				

У кожному з відповідних колб Ерленмейєра додавали 30 мл інокулянту (описаного у прикладі

4), перемішували й одержували зразки відразу і з інтервалами у 2 години. Зразки обробляли, як описано у прикладі 4. Результати наведено у таблиці 10.

Таблиця 10

Ефект дріжджового екстракту і пептону із соєвого борошна на виживаність інокулянту у присутності інсектициду, що містить бензилгеміформаль, протягом деякого часу

Обробка	КУО/мл			
	0 годин	2 години	4 години	6 годин
1	1,00 E+09	1,00 E+08	BDL*	BDL*
2	4,30 E+09	3,50 E+09	2,10 E+09	1,00 E+09
3	3,30 E+09	2,60 E+09	3,00 E+09	1,30 E+09
4	4,30 E+09	3,70 E+09	3,20 E+09	3,30 E+09
5	3,40 E+09	3,10 E+09	3,30 E+09	3,30 E+09

5 *BDL: нижче межі виявлення (10^6 КУО/мл)

Як показано в таблиці 10, дріжджовий екстракт, пептон із соєвого борошна і триптофан знижують шкідливі впливи на мікробну популяцію, індуковані присутністю агрохімікату, що містить бензилгеміформаль.

Приклад 6

10 Дріжджовий екстракт і казеїнат кальцію застосовували в передінокуляційній системі на основі торфу, що містить SEMIA 5079 B. japonicum і SEMIA 5080 B. japonicum (доступні від Novozymes), і тестували на сумісність з агрохімікатами, що містять бензилгеміформаль для стабільності насіння. Обробку насіння здійснювали, дотримуючись протоколу, описаного в даному документі.

15 Дріжджовий екстракт або казеїнат кальцію (від Merck) попередньо перемішували із застосуванням магнітних змішувачів протягом 6 годин з агрохімікатом, що містить бензилгеміформаль. Через 6 годин насіння обробляли. У таблиці 11 описані обробки насіння, розраховуючи на 1 кг насіння.

Таблиця 11

Обробки

	Номер обробки		
	1	2	3
Передінокуляційна система на основі торфу, що містить SEMIA 5079 B. japonicum і SEMIA 5080 B. japonicum	8,5 г	8,5 г	8,5 г
Інсектицид, що містить бензилгеміформаль	3 мл	3 мл	3 мл
Дріжджовий екстракт		0,3 г	
Казеїнат кальцію			0,3 г

20

У випадку обробок, що поєднують рідкі інокулянти й інші продукти (фунгіциди, інсектициди тощо), засіб для обробки одержували відповідно до інструкцій і забезпечували відстоювання при кімнатній температурі протягом півгодини перед інокуляцією насіння.

25 Насіння поміщали в поліетиленовий пакет і додавали засіб для обробки. Насіння повинне було займати 1/3 від загального об'єму пакета (наповненого повітрям і закритого). Уміст пакета енергійно перемішували обертальними рухами для належного розподілу продуктів всередині.

30 Пакет з інокульованим насінням відкривали, забезпечували осадження при кімнатній температурі протягом 4 годин і здійснювали підрахунки ризобій на насінні. Для цього 100 насінин поміщали в 250 мл колбу Ерленмейера зі 100 мл сольового розчину і піддавали струшуванню протягом 15 хв із застосуванням магнітної мішалки при близько 300 об./хв. Супернатант позначали як "розведення 10^0 ". Відбирали 1 мл зразків і звичайним способом розчиняли 1/10 у комплекті пробірок, що містять 9 мл стерильного сольового розчину (0,85 % NaCl у дистильованій воді). 0,1 мл розведень 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} і 10^{-4} висівали у трьох повторностях на агар із дріжджовим екстрактом і манітом (YEM).

35 Насіння потім поміщали в паперові пакети і тримали в камері при 30 °C до кінця тесту. Визначення повторювали через 24 і 48 годин після інокуляції. Планшети зчитували через сім днів і перевіряли на день 10. На планшетах підраховували від 30 до 300 колоній і перевіряли

співвідношення між розведеннями. КУО/насіння підраховували відповідно до формули (I), наведеної вище. Результати наведено в таблиці 12.

Таблиця 12

Ефект дріжджового екстракту і казеїнату кальцію на виживаність мікробів, що наносяться на насіння при застосуванні протягом деякого часу агрохімікату, який містить бензилгеміформаль

Обробки	Дні після обробки (30 °C)		
	0	2	5
1	1,50 E+05	6,60 E+03	BDL*
2	3,40 E+05	3,10 E+05	2,50 E+04
3	3,00 E+05	1,00 E+05	7,20 E+03

5 BDL *: нижче межі виявлення (10^2 КУО/насіння)

Як показано в таблиці 12, присутність дріжджового екстракту і казеїнату кальцію поліпшують відновлення мікробів на насінні, обробленому агрохімікатами, що містять бензилгеміформаль.

Слід розуміти, що опис і приклади є ілюстративними варіантами здійснення цього винаходу, і що інші варіанти здійснення в межах суті і обсягу заявлених варіантів здійснення будуть очевидними для фахівців у даній галузі техніки. Хоча справжнє розкриття було описано стосовно конкретних форм і їхніх варіантів здійснення, буде зрозуміло, що різні модифікації, відмінні від описаних вище, можуть бути застосовані без відступу від суті або обсягу варіантів здійснення, визначених у прикладеній формулі винаходу. Наприклад, можуть бути замінені конкретно описані еквіваленти, а в деяких випадках конкретна послідовність стадій може бути зворотною або перерваною без відступу від суті або обсягу варіантів здійснення, описаних у

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Спосіб обробки насіння для посилення мікробної стабільності, який включає додавання лецитину в композицію для обробки насіння, що містить одну або декілька протимікробних сполук та один або декілька корисних в галузі сільського господарства мікроорганізмів, причому лецитин додають в композицію для обробки насіння у кількості, достатній для інгібування протимікробної активності однієї або декількох протимікробних сполук, та лецитин додають в композицію для обробки насіння до, одночасно та/або після включення однієї або декількох протимікробних сполук, та/або одного або декількох корисних в галузі сільського господарства мікроорганізмів в композицію для обробки насіння.

2. Спосіб за п. 1, в якому один або декілька корисних в галузі сільського господарства мікроорганізмів включає один або декілька азотфіксувальних мікроорганізмів.

3. Спосіб за п. 1, в якому один або декілька корисних в галузі сільського господарства мікроорганізмів включає один або декілька фосфатсоліювальних мікроорганізмів.

4. Спосіб за п. 1, який додатково включає додавання в композицію для обробки насіння однієї або декількох сполук, що стабілізують мікроби, вибраної із групи, яка складається із дріжджового екстракту, казеїнату кальцію, молока, сечовини, гематинових засобів, м'ясного екстракту, аміаку, амінокислот, солей амонію, солей тривалентного заліза, солей двовалентного заліза, глюконолактону, глутатіону, полісорбатів, альбуміну, пептонів і їхніх комбінацій.

5. Спосіб за п. 1, в якому одна або декілька протимікробних сполук включає бактеріостат, бактерицид або їхню комбінацію.

6. Спосіб за п. 1, в якому одна або декілька протимікробних сполук включає дезінфекційний засіб, антисептичний засіб або антибіотик.

7. Спосіб за п. 1, в якому одна або декілька протимікробних сполук включає одну або декілька сполук, вибраних із групи, що складається з формальдегіду, бензилгеміформалю(фенілметоксиметанолу), 2-бром-2-нітро-1,3-пропандіолу, 1-(3-хлораліл)-3,5,7-триаза-1-азоніадамонтанхлориду, дибромнітрилопропіонамід, 1,2-бензізотіазолін-3-ону, 5-хлор-2-метил-4-ізотіазолін-3-ону, 2-метил-4-ізотіазолін-3-ону, діазолідинілу сечовини, трис(гідроксиметил)нітрометану, о-фенілфенату натрію, арсенатів міді, оксиду міді, сполук арсену, міді, ртуті, сполук четвертинного амонію, азиду натрію, тимеросолу, активного хлору, активного кисню, йоду, пероксидів, органічних кислот, спиртів, фенольних речовин, катіонних поверхнево-активних речовин, пеніциліну, цефалоспоринов, аміноглікозидних антибіотиків, фторхінолонів, нітрофуранів, ванкомицину, монобактамів, котримоксазолу, метронідазолу і їхніх комбінацій.

8. Спосіб за п. 1, який додатково включає стадію додавання в композицію для обробки насіння одного або декількох корисних із сільськогосподарської точки зору інгредієнтів.
9. Спосіб за п. 8, в якому один або декілька корисних із сільськогосподарської точки зору інгредієнтів включає одну або декілька сигнальних молекул рослини, вибраних із групи, що складається з ліпохітоолігосахаридів (LCO), хітоолігосахаридів (CO), хітинових сполук, флавоноїдів, жасмонової кислоти, метилжасмонату, лінолевої кислоти, ліноленової кислоти, карикінів і їхніх комбінацій.

Комп'ютерна верстка О. Рябко

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601