

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202391131** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2023.06.30

(22) Дата подачи заявки
2021.10.15

(51) Int. Cl. *A01N 59/08* (2006.01)
A01N 63/20 (2020.01)
A01N 63/28 (2020.01)
A01N 63/32 (2020.01)
C05F 11/08 (2006.01)
A01P 21/00 (2006.01)

(54) **ПРИМЕНЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ И КАЛЬЦИЯ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ ЗДОРОВЬЯ РАСТЕНИЙ И/ИЛИ УСТОЙЧИВОСТИ К ПАТОГЕНАМ РАСТЕНИЙ**

(31) **20202265.3**

(32) **2020.10.16**

(33) **EP**

(86) **RST/EP2021/078650**

(87) **WO 2022/079261 2022.04.21**

(88) **2022.06.16**

(71) Заявитель:

**УНИВЕРСИТЕТ ФЮР
БОДЕНКУЛЬТУР ВИЕН;
ВАЛИБИОТИКС ГМБХ (АТ)**

(72) Изобретатель:

**Харрейгер Вольфганг, Лемменс Марк,
Омидвар Реца (АТ)**

(74) Представитель:

Явкина Е.В. (RU)

(57) Изобретение относится к применению набора или композиции, включающей по крайней мере один дрожжевой грибок и по крайней мере одну бактерию, выбранную из группы, состоящей из *Lactobacillales*, *Rhizobiales* и *Bifidobacteriales*, и/или содержащей кальций для улучшения здоровья растений, повышения устойчивости растений к патогенам растений, предотвращения или уменьшения загрязнения растительного материала микотоксинами, повышения устойчивости растений к болезням растений, предотвращения образования перитециев патогена растений на растительных остатках, защиты растений и/или в качестве стимуляторов роста растений. Настоящее изобретение также относится к соответствующим композициям и наборам, а также к способу применения такой композиции или набора для живого растения или растительных остатков.

A1

202391131

202391131

A1

ПРИМЕНЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ И КАЛЬЦИЯ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ
ЗДОРОВЬЯ РАСТЕНИЙ И/ИЛИ УСТОЙЧИВОСТИ К ПАТОГЕНАМ
РАСТЕНИЙ

Настоящее изобретение относится к применению набора или композиции, которые включают, по крайней мере, один дрожжевой грибок и, по крайней мере, одну бактерию, выбранную из группы, состоящей из *Lactobacillales*, *Rhizobiales* и *Bifidobacteriales*, и/или содержат кальций для улучшения здоровья растений, повышения устойчивости растений к патогенам растений, предотвращения или уменьшения загрязнения растительного материала микотоксинами, повышения устойчивости растений к болезням растений, предотвращения образования перитециев патогена растений на растительных остатках, защиты растений и/или в качестве стимуляторов роста растений. Настоящее изобретение также относится к соответствующим композициям и наборам, а также к способу применения такой композиции или набора для живого растения или растительных остатков.

Агрономически значимые культуры, такие как зерновые (пшеница, ячмень, рожь, тритикале), кукуруза, овощи и фрукты, находятся под угрозой заражения различными вредными патогенами, например, грибами. Возникающие в результате заболевания вызывают неурожай или потерю качества и, таким образом, приводят к большим потерям по всей производственной цепочке от семян до хранимого урожая.

Фузариоз колоса (FHB) зерновых (*Fusarium graminearum*) и фузариоз початков (FER) кукурузы являются двумя основными проблемами в сельском хозяйстве. FHB и FER вызывают потери качества из-за загрязнения зерен микотоксинами, представляющими значительную угрозу для здоровья домашних животных и человека, и в отношении которых во всем мире установлены пищевые нормы. Фузариоз ежегодно наносит экономический ущерб во всем мире в размере нескольких миллиардов евро. Косвенные затраты, например, связанные с программами мониторинга микотоксинов и снижением продуктивности скота, по оценкам, еще выше. *Fusarium graminearum* может выжить только на зараженных растительных остатках, которые остаются в поле после сбора

урожая. Весной при благоприятных погодных условиях на зараженных растительных остатках развивается половая стадия гриба (*Gibberella zeae*). На поверхности этих остатков образуются плодовые тела гриба (перитеции), а в воздух выделяются споры полового размножения (аскоспоры), являющиеся первичным инокулятом инфекции в новом сезоне. Соответствующий севооборот может помочь уменьшить спорообразование, но во многих регионах практикуется тесный севооборот между кукурузой и зерновыми (пшеница после кукурузы, кукуруза после кукурузы и пшеница после пшеницы), и, поскольку один и тот же возбудитель фузариоза поражает обе культуры, интенсивность болезни растет из года в год.

К наиболее распространенным грибковым заболеваниям в виноградарстве относятся эска (вызывается грибами *Fomitiporia*, *Phaeomoniella* и *Phaeoacremonium*), ложная мучнистая роса (вызывается *Plasmopara viticola*), мучнистая роса (*Erysiphe necator*), а также серая гниль (*Botrytis cinerea*). Эти болезни приводят к огромным потерям урожая, вплоть до полного неурожая и даже гибели лоз на всем винограднике.

Фитофтороз картофеля, вызываемый оомицетом *Phytophthora infestans*, является наиболее разрушительным и трудно поддающимся контролю заболеванием в производстве картофеля, которое может привести к полной потере урожая.

Болезни листьев сахарной свеклы, вызываемые патогенными грибами, такими как *Cercospora beticola* (церкоспороз), *Ramularia betae* (рамуляриоз), *Uromyces betae* (ржавчина), *Erysiphe betae* (мучнистая роса), представляют серьезную проблему и приводят к огромным потерям качества и урожая, вплоть до полного неурожая.

Наиболее серьезными грибковыми патогенами для яблонь являются *Venturia inaequalis* (парша яблони), а также грибы-возбудители мучнистой росы *Podosphaera leucotricha*. Эти болезни могут привести к деформации, недоразвитию и, в конечном итоге, к потере урожая и качества.

Fusarium oxysporum является известным почвенным патогеном лука, вызывающим корневую гниль и последующее повреждение всего растения.

Фитопатогенный гриб *Sclerotinia sclerotiorum* вызывает склеротиниоз масличного рапса, приводя к серьезным проблемам из-за нарушения развития семян и, следовательно, к снижению урожайности.

У подсолнечника *Sclerotinia sclerotiorum* является причиной гнили корзинок и стеблей, а также увядания корней. При раннем заражении или корневой инфекции растения обычно быстро погибают. Корзинки увядших растений меньше, а масса семян ниже по сравнению со здоровыми растениями.

В попытке предотвратить вспышку грибковой инфекции или, по крайней мере, ограничить ее распространение, как правило, используются синтетические пестициды. Однако фунгициды, широко применяемые в современном сельском хозяйстве, не всегда проявляют необходимую эффективность, поскольку устойчивость к этим химическим веществам возросла, и в то же время химические синтетические фунгициды вызывают стресс у обрабатываемых растений и оказывают негативное воздействие на почву и окружающую среду. Более того, органическое земледелие вообще не позволяет использовать химические синтетические фунгициды.

Сюз и др. (Can. J. Plant Pathol. 31: 169–179): содержится описание борьбы с фузариозом колоса с помощью микроорганизма *Clonostachys rosea*.

US 2019/0133136 A1: описывает применение микроорганизма, выбранного из группы, состоящей из *Pseudomonas trivialis*, *Pseudomonas lurida*, *Phaeophlebiopsis sp.*, *Periconia macrospinosa* и их комбинаций, для лечения фузариоза колоса.

WO 2013/174792: описывает применение определенных *Lactobacillae* (*Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum*) для контроля роста загрязняющих веществ, таких как бактерии, дрожжи или плесень, в пищевых продуктах или кормах.

Независимо от существующих стратегий предотвращения распространения заражения патогенами, все еще существует большая потребность в новых средствах предотвращения потерь в растениеводстве из-за заражения патогенами, в частности заражения грибами. Таким образом, целью настоящего изобретения было создание таких новых средств, в частности средств для улучшения здоровья растений, повышения

устойчивости растений к растительным патогенам и предотвращения или уменьшения загрязнения растительного материала микотоксинами.

Данная проблема решается с помощью предмета изобретения, изложенного ниже, а также в прилагаемой формуле изобретения.

Авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что определенные микроорганизмы, кальций и их комбинации можно эффективно использовать для усиления устойчивости растений к растительным патогенам, в частности, для усиления устойчивости к фитопатогенным грибам.

Таким образом, настоящее изобретение относится в первом аспекте к применению композиции или набора, включающего в себя:

а) не менее двух, предпочтительно не менее трех, более предпочтительно не менее четырех, еще более предпочтительно не менее пяти различных микроорганизмов, наиболее предпочтительно шести различных микроорганизмов, при этом микроорганизмы выбираются из бактерий и дрожжей, причем микроорганизмы включают в себя, как минимум, одну бактерию и один дрожжевой грибок, и при этом бактерии выбираются из группы, состоящей из *Lactobacillales*, *Rhizobiales* и *Bifidobacteriales*; и/или

б) кальций, присутствующий предпочтительно в форме хлорида кальция, пропионата кальция, лактата кальция, ацетата кальция, цитрата кальция и карбоната кальция, в частности, хлорида кальция, пропионата кальция или карбоната кальция,

для улучшения здоровья растений, повышения устойчивости растений к растительным патогенам, предотвращения или снижения загрязнения растительного материала микотоксинами, повышения устойчивости растений к болезням растений (например, вызванным патогенами растений), предотвращения образования перитециев растительных патогенов на растительных остатках, защиты растений и/или в качестве стимулятора роста растений.

Используемый здесь термин "улучшение здоровья растений" понимается как любая форма улучшения здоровья растений, в частности, снижения заболеваемости растений,

обработанных композицией или набором, по сравнению с необработанными растениями, выращенными в тех же условиях.

Используемый термин "повышение устойчивости растений к патогенам растений" относится к повышенной способности данного растения к устойчивости, по крайней мере, к одному патогену растений, в частности к грибу, такому как *F. graminearum*. Повышенная устойчивость может, например, проявляться в виде уменьшения случаев заражения патогеном, уменьшения симптомов заболевания, вызванного патогеном, и/или сокращения времени выздоровления от начала заболевания, вызванного патогеном. Улучшенную устойчивость к целевому патогену можно наблюдать при сравнении растений, обработанных композицией или набором согласно изобретению, с необработанными растениями, выращенными в тех же экспериментальных условиях.

Термин "повышение устойчивости растений к заболеванию растений, вызываемому патогеном растений", используемый в настоящем документе, относится к снижению частоты или тяжести заболевания растений, обработанных композицией или набором, по сравнению с необработанными растениями, выращенными в тех же условиях. Инфекционные болезни растений вызываются патогенным организмом, таким как гриб или бактерия.

Используемый в данном документе термин "содержащий" не должен толковаться только как "состоящий из" (т.е. исключая присутствие других дополнительных материалов). Термин "содержащий" подразумевает, что могут присутствовать необязательные дополнительные элементы, признаки или этапы. Термин "содержащий" включает в себя как конкретно предусмотренные варианты осуществления, подпадающие под его объем, "состоящие из" (т.е. исключая присутствие другого дополнительного материала) и "содержащие, но не состоящие из" (т.е. требующие наличия других дополнительных элементов, признаков или этапов), причем первый является более предпочтительным.

Использование слова "а" или "an" в настоящем документе может означать "один", но также согласуется со значением "один или более", "по крайней мере, один" и "один или более чем один".

В контексте первого аспекта изобретения (использование изобретения), а также в контексте способа настоящего изобретения, растение может представлять собой растение любого типа, которое получает пользу от обработки вышеупомянутой композицией (или набором). Предпочтительно растение представляет собой сельскохозяйственную культуру. Особенно предпочтительными растениями являются растения, выбранные из группы мелкозерновых злаков, кукурузы и винограда, для которых авторы изобретения уже продемонстрировали в примерах очень эффективную обработку вышеупомянутой композицией (или набором), содержащей микроорганизмы и/или кальций. Авторы изобретения предусматривают, в частности, применение вышеупомянутой композиции (или набора) для растений (и растительного материала соответствующих растений и т.д.), выбранных из группы, состоящей из пшеницы, ячменя, овса, ржи, тритикале, кукурузы, винограда, картофеля, сахарной свеклы, лука, яблони, рапса и подсолнечника, в частности, пшеницы, кукурузы, винограда, картофеля, сахарной свеклы, лука, яблони, рапса и подсолнечника. Наиболее предпочтительным является выбор растений из пшеницы и винограда. Растение может получить пользу от непосредственной обработки композицией (или набором), что приводит к улучшению здоровья и устойчивости к болезням со стороны патогенов растений, в частности грибов, таких как *Fusarium graminearum* или других патогенных для растений грибов. Однако, как показано в примерах, растение также может получить косвенную пользу от применения композиции (или набора), содержащей микроорганизмы и/или кальций, путем нанесения композиции (или набора) на растительные остатки и мертвый растительный материал из последнего вегетационного периода, на котором гемибиотрофные/некротрофные патогены, такие как *F. graminearum*, могут выживать зимой и запускать новый инфекционный цикл весной.

Микроорганизмами, используемыми согласно первому аспекту изобретения, являются, по крайней мере, два микроорганизма, а именно, по крайней мере, одна бактерия и, по крайней мере, один дрожжевой гриб. Предпочтительно композиция (или набор) содержит более двух микроорганизмов, например, по крайней мере, три, по крайней мере, четыре или, по крайней мере, пять микроорганизмов, причем последний вариант является наиболее предпочтительным. Композиция или набор могут, например, содержать от 2 до 6 микроорганизмов, от 3 до 6 микроорганизмов, от 4 до 6 микроорганизмов или ровно 6 микроорганизмов. Выбранные микроорганизмы могут

быть свободно выбраны из бактерий и дрожжей, но предпочтительно композиция или набор содержит больше бактерий, чем дрожжей.

Как упоминалось ранее, бактерии выбираются из группы, состоящей из *lactobacillales*, *rhizobiales* и *bifidobacteriales*. Предпочтительно композиция (или набор), используемая в соответствии с первым аспектом изобретения, содержит преимущественно или даже исключительно *lactobacillales*, такие как *L. fermentum*, *L. casei* или *L. plantarum*. Наиболее предпочтительно композиция (или набор) содержит в качестве бактерии, по крайней мере, один штамм *L. plantarum*. Согласно изобретению (т.е. независимо от аспекта изобретения) особенно предпочтительным подвидом *L. plantarum* является *Lactiplantibacillus plantarum subsp. plantarum*. Если композиция (или набор) содержит, по крайней мере, одну бактерию, выбранную из *rhizobiales*, то предпочтительной бактерией является *R. palustris*. В случае, если композиция (или набор) содержит, по крайней мере, одну бактерию, выбранную из *bifidobacteriales*, то предпочтительно бактерию выбирают из группы, состоящей из *Bifidobacterium bifidum* и *B. animalis*. В особенно предпочтительном варианте изобретения все бактерии композиции (или набора) выбираются из группы, состоящей из *L. fermentum*, *L. casei*, *L. plantarum*, *R. palustris*, *Bifidobacterium bifidum* и *B. animalis*. По крайней мере, один дрожжевой грибок в композиции (или наборе) для применения изобретения (т.е. первый аспект изобретения) предпочтительно представляет собой *S. cerevisiae*. Наиболее предпочтительно, когда, по крайней мере, два, по крайней мере, три, по крайней мере, четыре или, по крайней мере, пять микроорганизмов композиции (или набора) выбираются из группы, состоящей из *L. fermentum*, *L. casei*, *L. plantarum*, *S. cerevisiae*, *R. palustris*, *B. bifidum* и *B. animalis*, и еще более предпочтительно из группы, состоящей из *L. fermentum*, *L. casei*, *L. plantarum* и *S. cerevisiae*.

Различные микроорганизмы могут отличаться только на уровне штаммов, т.е. не обязательно должны быть разными видами. Например, композиция (или набор), содержащая, по крайней мере, три разных микроорганизма, может включать, по крайней мере, одну бактерию и два разных штамма одних и тех же дрожжей, например два разных типа *S. cerevisiae*. Аналогично, композиция может содержать, по крайней мере, один дрожжевой грибок и два разных штамма одной и той же бактерии, например, два различных штамма *L. fermentum*, *L. casei* или *L. plantarum*, в частности, *L. plantarum*. Предпочтительно композиция (или набор), применяемая в соответствии с первым

аспектом изобретения, содержит более одного штамма *Lactobacillus*. В некоторых вариантах осуществления композиция (или набор) будет содержать, по крайней мере, два штамма одних и тех же бактерий, например, два штамма *Lactobacillus* одного и того же вида и параллельно два разных штамма одних и тех же дрожжей, например, два штамма *S. cerevisiae*. Особенно предпочтительными комбинациями бактерий в используемой композиции (или наборе) являются i) *L. fermentum*, *L. casei*, *L. plantarum* и *R. palustris*, ii) *L. fermentum*, *L. casei*, *L. plantarum*, *R. palustris*, *B. bifidum* и *B. animalis*, и iii) *L. fermentum*, *L. casei* и два различных вида штаммов *L. plantarum*, причем последний вариант является наиболее предпочтительным примером осуществления. Как упоминалось выше, особенно предпочтительным подвидом *L. plantarum* является *Lactiplantibacillus plantarum subsp. plantarum*.

Композиции, приведенные в примерах (и соответствующие наборы), являются особенно предпочтительными композициями (и наборами) для использования в контексте первого аспекта изобретения и могут включать:

- i) *L. fermentum*, *L. casei*, *L. plantarum* (например, *L. plantarum subsp. plantarum*), *S. cerevisiae*, *R. palustris*;
- ii) *L. fermentum*, *L. casei*, *L. plantarum* (например, *L. plantarum subsp. plantarum*), *S. cerevisiae*, *R. palustris*, *B. bifidum*, *B. animalis*; или (наиболее предпочтительно)
- iii) *L. fermentum*, *L. casei*, два разных штамма *L. plantarum* (например, подвид *L. plantarum subsp. plantarum*) и два разных *S. cerevisiae*.

Микроорганизмы, необходимые для использования первого аспекта изобретения, легко доступны специалисту и, например, коммерчески доступны из депозитариев микроорганизмов, таких как Американская коллекция типовых культур (ATCC, США), Чешская коллекция микроорганизмов (CCM), Немецкая коллекция микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ, Германия), Нидерландская коллекция культур бактерий и CBS (NCCB/CBS), Центр биологических ресурсов, Национальный институт технологии и оценки (IFO, Япония), Корейский центр культур микроорганизмов (KCCM).

Вместо микроорганизмов или в сочетании с микроорганизмами композиция (или набор), подлежащая применению в соответствии с первым аспектом изобретения, может также содержать кальций, например, в форме ионов кальция. Как продемонстрировали авторы

изобретения, кальций также оказывает положительное влияние на здоровье растений и может использоваться (отдельно или в сочетании с микроорганизмами) для улучшения здоровья растений, повышения устойчивости растений к патогенам растений, предотвращения или уменьшения загрязнения микотоксинами растительного материала, повышения устойчивости растений к болезням растений (например, вызванным патогеном растений), предотвращения образования перитециев патогена растений на растительных остатках, защиты растений и/или в качестве стимуляторов роста растений.

Кальций может быть представлен, например, в форме хлорида кальция, пропионата кальция, лактата кальция, ацетата кальция, цитрата кальция, карбоната кальция или их смесей и т.д. Наиболее предпочтительным вариантом является обеспечение в виде хлорида кальция. В частности, кальций должен присутствовать в водорастворимой форме в композиции (или наборе), для того чтобы обеспечить легкое распределение и/или поглощение растением или растительным материалом. Кальций предпочтительно не должен быть представлен в виде карбоната кальция, в частности, из-за его слабой растворимости. Если используется относительно нерастворимая форма кальция, такая как карбонат кальция, то параллельно рекомендуется использовать, например, кислоту, в частности, органические кислоты, такие как молочная кислота, пропионовая кислота, уксусная кислота или лимонная кислота, для того чтобы облегчить образование растворимого соединения кальция. Композиции согласно изобретению могут содержать, например, следующие концентрации кальция: от около 5 мМ до около 250 мМ, более предпочтительно от около 15 мМ до около 100 мМ, более предпочтительно от около 20 мМ до около 70 мМ и наиболее предпочтительно около 30 мМ. Например, в тех вариантах осуществления, где кальций присутствует в форме хлорида кальция, композиция (или набор) может содержать приблизительно от 0,3% до 5% (масса/объем), 0,6-3% (масса/объем), от 0,6 до 1,8% (масса/объем), от 0,3 до 0,6% (масса/объем) или, например, 0,9% (масса/объем) хлорида кальция. Наиболее предпочтительный диапазон концентраций может незначительно варьироваться в зависимости от обрабатываемого растения. Например, если требуется обработка пшеницы, то диапазон содержания хлорида кальция предпочтительно составляет от 0,6% до 1,2% (масса/объем), наиболее предпочтительно 0,9% (масса/объем). Если необходимо обработать виноградную лозу, то концентрация хлорида кальция предпочтительно находится в диапазоне от 0,3 до 0,6% (масса/объем). В некоторых вариантах осуществления и, в частности, в случае обработки виноградной лозы, композиция в соответствии с изобретением также может применяться

более одного раза за полевой сезон. Например, ее можно применять не менее 3 раз за полевой сезон.

Согласно первому аспекту изобретения композиция (или набор), содержащая микроорганизмы и/или кальций, может быть использована для улучшения здоровья растений, повышения устойчивости растений к патогенам растений, предотвращения или снижения загрязнения растительного материала микотоксинами, повышения устойчивости растений к болезням растений (например, вызванным патогеном растений), предотвращения образования перитециев патогена растений на растительных остатках, защиты растений и/или в качестве стимулятора роста растений. В случаях, когда композицию (или набор) применяют для повышения устойчивости растений к патогену растений, повышения устойчивости растений к болезням растений, вызываемым патогеном растений, или предотвращения образования перитециев патогена растений на растительных остатках, упоминалось, что целевым патогеном растения может быть, например, грибок. Предпочтительно патоген растений является не чисто биотрофным, а гемибиотрофным или некротрофным, предпочтительно гемибиотрофным. Патоген растений может, например, быть патогеном любой из вышеупомянутых сельскохозяйственных культур, в частности мелкозерновых злаков, кукурузы и винограда. Примерами патогенов, которые конкретно рассматриваются авторами настоящего изобретения, являются *Fusarium graminearum*, *Plasmopara viticola*, *Erysiphe necator*, *Phytophthora infestans*, *Cercospora beticola*, *Ramularia betae*, *Venturia inaequalis*, *Podosphaera leucotricha*, *Fusarium oxysporum* и *Sclerotinia sclerotiorum*. Наиболее предпочтительно патоген растений представляет собой *Fusarium graminearum* и *Plasmopara viticola*.

Согласно первому аспекту изобретения композиция (или набор), содержащая микроорганизмы и/или кальций, также может быть использована для повышения устойчивости растений к болезням растений, вызываемым патогеном растений. Специалист будет хорошо осведомлен о болезнях растений и растительных патогенах отдельных растений, в частности сельскохозяйственных культур. Например, болезнями растений могут быть фузариоз колоса или фузариоз початков, вызываемые *F. graminearum*. Кроме того, авторы изобретения также предусматривают применение композиции (или набора), содержащей микроорганизмы и/или кальций, как определено выше, для повышения устойчивости растений к ложной мучнистой росе (*Plasmopara*

viticola) или мучнистой росе (*Erysiphe necator*). В соответствии с настоящим изобретением, особенно предпочтительным является повышение устойчивости пшеницы или кукурузы к фузариозу колоса или фузариозу початков (вызываемых *F. graminearum*).

Предпочтительно, композиция (или набор), используемая в соответствии с первым аспектом изобретения, не содержит фототрофных бактерий, поскольку такие бактерии не являются необходимыми для достижения желаемого эффекта (т.е. для улучшения здоровья растений, повышения устойчивости растений к патогенам растений, предотвращения или снижения загрязнения растительного материала микотоксинами, повышения устойчивости растений к болезням растений (например, вызванным патогеном растений) или предотвращения образования перитециев патогена растений на растительных остатках). Однако присутствие такого вида бактерий, конечно, также не исключается при осуществлении идеи настоящего изобретения.

Композиция (или набор), предназначенная для использования в соответствии с первым аспектом изобретения, может допускать любое желаемое нанесение композиции (или набора) на интересующие растения, растительный материал или растительные остатки. Это может быть, например, жидкость или порошок. Предпочтительно композиция представляет собой жидкость (или соответствующие компоненты набора присутствуют в жидкой форме). Такие жидкие композиции и компоненты удобно распылять на растение (растительный материал, растительные остатки), обеспечивая равномерное распределение композиции (или компонентов набора). Однако и, в частности, для целей хранения возможны и сухие композиции (или компоненты набора), которые охватываются объемом первого аспекта изобретения. Сухие композиции или компоненты наборов могут, например, включать лиофилизированные микроорганизмы.

Во втором аспекте настоящее изобретение относится к композиции, содержащей, по крайней мере, два, предпочтительно, по крайней мере, три, более предпочтительно, по крайней мере, четыре и наиболее предпочтительно, по крайней мере, пять микроорганизмов и, в качестве варианта, кальций, где, по крайней мере, один из микроорганизмов представляет собой бактерию и, по крайней мере, один из них представляет собой дрожжевой грибок (предпочтительно *S. cerevisiae*), и при этом бактерии представляют собой Lactobacillales, и при этом композиция предпочтительно

не содержит *R. palustris*. Композиция согласно второму аспекту изобретения может дополнительно содержать другие бактерии, такие как bifidobacteriales, в частности, *B. bifidum* и *B. animalis*. Однако композиции без bifidobacteriales, т.е. без *B. bifidum* и *B. animalis*, также специально рассматриваются автором изобретения. Особенно предпочтительная композиция согласно настоящему изобретению не будет содержать ни *R. palustris*, ни *B. bifidum*, ни *B. animalis*. В остальном, микроорганизмы композиции согласно изобретению, могут быть такими же, как определено выше для применения изобретения в соответствии с первым аспектом изобретения. Как и ранее, микроорганизмы заявляемой композиции по второму аспекту изобретения составляют, по крайней мере, два, а именно, по крайней мере, одну бактерию и, по крайней мере, один дрожжевой грибок. Предпочтительно композиция в соответствии с изобретением содержит более двух микроорганизмов, например, по крайней мере, три, по крайней мере, четыре или, по крайней мере, пять микроорганизмов, причем последний вариант является наиболее предпочтительным. Композиция может, например, содержать от 2 до 5 микроорганизмов, от 3 до 5 микроорганизмов, от 4 до 5 микроорганизмов или ровно 5 микроорганизмов. Микроорганизмы могут быть свободно выбраны из бактерий (предпочтительно, за исключением *R. palustris*) и дрожжей, но предпочтительно композиция содержит больше бактерий, чем дрожжей. Композиция согласно второму аспекту изобретения может содержать преимущественно или даже исключительно lactobacillales, такие как *L. fermentum*, *L. casei* или *L. plantarum*. Наиболее предпочтительно композиция согласно изобретению в соответствии со вторым аспектом содержит в качестве бактерии, по крайней мере, один штамм *L. plantarum* (предпочтительно из подвида *L. plantarum subsp. plantarum*). В случае, если композиция согласно изобретению должна содержать, по крайней мере, одну бактерию, выбранную из bifidobacteriales, то предпочтительно бактерию выбирают из группы, состоящей из *Bifidobacterium bifidum* и *B. animalis*. В особенно предпочтительном варианте осуществления изобретения все бактерии композиции по изобретению выбираются из группы, состоящей из *L. fermentum*, *L. casei*, *L. plantarum*, *Bifidobacterium bifidum* и *B. animalis*. По крайней мере, один дрожжевой грибок в композиции согласно второму аспекту изобретения предпочтительно представляет собой *S. cerevisiae*. Более предпочтительно, по крайней мере, два, по крайней мере, три, по крайней мере, четыре или, по крайней мере, пять микроорганизмов композиции выбирают из группы, состоящей из *L. fermentum*, *L. casei*, *L. plantarum*, *S. cerevisiae*, *B. bifidum*, и *B. animalis*. Наиболее предпочтительно, по крайней мере, два, по крайней мере, три, по крайней мере,

четыре или, по крайней мере, пять микроорганизмов композиции выбирают из группы, состоящей из *L. fermentum*, *L. casei*, *L. plantarum* и *S. cerevisiae*.

Различные микроорганизмы композиции согласно второму аспекту изобретения могут отличаться только на уровне штамма, т.е. не обязательно принадлежать разным видам. Например, композиция по изобретению, включающая, по крайней мере, три разных микроорганизма, может включать, по крайней мере, одну бактерию и два разных штамма одних и тех же дрожжей, например, два разных типа *S. cerevisiae*. Аналогично, композиция может содержать, по крайней мере, один дрожжевой грибок и два разных штамма одной и той же бактерии, например, два различных штамма *L. fermentum*, *L. casei* или *L. plantarum*, в частности *L. plantarum* (предпочтительно подвида *L. plantarum subsp. plantarum*). Предпочтительно композиция по второму аспекту изобретения содержит более одного штамма *Lactobacillus*. В некоторых вариантах осуществления композиция будет содержать, по крайней мере, два штамма одних и тех же бактерий, например, два штамма *Lactobacillus* одного и того же вида и параллельно два разных штамма одних и тех же дрожжей, например, два штамма *S. cerevisiae*. Особенно предпочтительной комбинацией бактерий в композиции по изобретению во втором аспекте является *L. fermentum*, *L. casei* и два различных вида штаммов *L. plantarum* (предпочтительно подвида *L. plantarum subsp. plantarum*).

Композиция по второму аспекту изобретения, рассматриваемая в разделе примеров, представляет собой композицию, содержащую *L. fermentum*, *L. casei*, два различных штамма *L. plantarum* (предпочтительно подвида *L. plantarum subsp. plantarum*) и *S. cerevisiae*. Как и ранее для применения изобретения в соответствии с первым аспектом изобретения, микроорганизмы, необходимые для композиции по второму аспекту изобретения, легкодоступны специалисту.

В третьем аспекте настоящее изобретение относится к композиции, содержащей, по крайней мере, следующие бактерии: *L. fermentum*, *L. casei*, два различных вида штаммов *L. plantarum* и, по крайней мере, два штамма *S. cerevisiae*. Такая композиция может содержать также дополнительные бактерии, например, бактерии, выбранные из группы, состоящей из *Lactobacillales*, *Rhizobiales* и *Bifidobacteriales*. Предпочтительно композиция согласно третьему аспекту изобретения содержит преимущественно или даже исключительно *Lactobacillales*, такие как *L. fermentum*, *L. casei* или *L. plantarum*.

(предпочтительно подвида *L. plantarum subsp. plantarum*). Если композиция содержит, по крайней мере, одну бактерию, выбранную из *rhizobiales*, то предпочтительной бактерией является *R. palustris*. Если композиция должна содержать, по крайней мере, одну бактерию, выбранную из *bifidobacteriales*, то предпочтительно бактерию выбирают из группы, состоящей из *B. bifidum* и *B. animalis*.

Композиции по второму и третьему аспектам изобретения могут также содержать кальций, например, в форме ионов кальция. Кальций может присутствовать, например, в форме хлорида кальция, пропионата кальция, лактата кальция, ацетата кальция, цитрата кальция, карбоната кальция или их смесей и т.д. Наиболее предпочтительно, если кальций представлен в виде хлорида кальция, карбоната кальция или пропионата кальция. В частности, как уже указывалось ранее для применения изобретения, кальций должен присутствовать в водорастворимой форме в композициях по второму или третьему аспекту изобретения, для того чтобы обеспечить легкое распределение и/или поглощение композиций растением или растительным материалом. В идеале кальций не должен поступать в виде карбоната кальция, в частности, из-за его слабой растворимости. Если используется относительно нерастворимая форма кальция, такая как карбонат кальция или сульфат кальция, то желательно, чтобы композиции по изобретению содержали параллельно кислоту, в частности, органические кислоты, такие как молочная кислота, для облегчения образования растворимых соединений кальция. Композиции по изобретению могут содержать, например, следующие концентрации кальция: от около 5 мМ до около 250 мМ, от около 15 мМ до около 100 мМ, от около 20 мМ до около 70 мМ и приблизительно 30 мМ. Например, в тех вариантах осуществления, где кальций обеспечивается в форме хлорида кальция, композиция (или набор) может содержать приблизительно от 0,3% до 5%, от 0,6% до 3%, от 0,6 до 1,8%, от 0,3 до 0,6% или, например, 0,9% хлорида кальция. Наиболее предпочтительный диапазон концентраций может варьироваться в зависимости от обрабатываемого растения. Например, если требуется обработка пшеницы, то диапазон содержания хлорида кальция предпочтительно составляет от 0,6% до 1,2%, наиболее предпочтительно 0,9% (всегда как (масса/объем)). Если необходимо обработать виноградную лозу, то концентрация хлорида кальция предпочтительно находится в диапазоне от 0,3 до 0,6% (масса/объем).

Предпочтительно композиции по второму и третьему аспектам изобретения не содержат фототрофных бактерий, поскольку такие бактерии не являются существенными для

достижения желаемого эффекта изобретения (т.е. для улучшения здоровья растений, повышения устойчивости растений к патогенам растений, предотвращения или снижения загрязнения микотоксинами растительного материала, повышения устойчивости растений к болезням растений (например, вызванным патогеном растений) или предотвращения образования перитециев патогена растений на растительных остатках). Однако присутствие такого вида бактерий, конечно, также не исключается при осуществлении идей второго и третьего аспектов изобретения.

Как и ранее, для применения в соответствии с первым аспектом изобретения композиции по второму и третьему аспектам изобретения могут принимать любую желаемую форму, позволяющую наносить композицию согласно изобретению на растение. Композиции могут быть, например, жидкими или порошкообразными. Предпочтительно композиции в соответствии с изобретением представляют собой жидкость, для того чтобы обеспечить равномерное распределение композиции на растении или растительном материале. Однако и, в частности, для целей хранения возможны и сухие композиции, которые охватываются объемом второго и третьего аспектов изобретения.

Композиции согласно второму и третьему аспектам изобретения можно использовать при осуществлении применения изобретения, т.е. по первому аспекту изобретения (см. выше) или для способа изобретения (см. ниже).

В четвертом аспекте настоящее изобретение относится к набору (набору частей), включающему, по крайней мере, два, предпочтительно, по крайней мере, три, более предпочтительно, по крайней мере, четыре, еще более предпочтительно, по крайней мере, пять различных микроорганизмов, наиболее предпочтительно даже шесть микроорганизмов и, в качестве варианта, кальций, где, по крайней мере, один из микроорганизмов представляет собой бактерию и, по крайней мере, один из них представляет собой дрожжевой грибок, и при этом бактерии представляют собой *lactobacillales*, и при этом набор предпочтительно не содержит *R. palustris*. Набор согласно четвертому аспекту изобретения может дополнительно содержать другие бактерии, такие как *bifidobacteriales*, в частности, *B. bifidum* и *B. animalis*. Однако композиции без *bifidobacteriales*, т.е. без *B. bifidum* и *B. animalis* также специально рассматриваются авторами изобретения. Особенно предпочтительная композиция в соответствии с настоящим изобретением не будет содержать ни *R. palustris*, ни *B. bifidum*,

ни *B. animalis*. В остальном микроорганизмы набора в соответствии с изобретением могут быть такими же, как определено выше для композиций по изобретению согласно второму и третьему аспектам изобретения. Микроорганизмы могут содержаться в отдельных контейнерах, или же некоторые или все из них могут содержаться в одном контейнере. Набор в соответствии с изобретением может содержать кальций, и то, что было изложено выше для композиций по изобретению, в равной степени относится и к набору по изобретению. Кальций предпочтительно находится в отдельном контейнере, но также может содержаться в том же контейнере, что и один или несколько микроорганизмов. Микроорганизмы могут присутствовать в наборе в сухой форме (например, лиофилизированные микроорганизмы) или жидкой форме. Особенно предпочтительными наборами в соответствии с настоящим изобретением являются наборы, не содержащие *R. palustris*, и наборы, содержащие *L. fermentum*, *L. casei* и два разных вида штаммов *L. plantarum*, в частности, содержащие *L. fermentum*, *L. casei*, два разных вида штаммов *L. plantarum* и два разных вида *S. cerevisiae*. Набор в соответствии с настоящим изобретением может быть использован, например, для создания композиции согласно второму или третьему аспекту изобретения, а также может быть использован для осуществления применения изобретения в соответствии с первым аспектом изобретения. В вариантах осуществления, где набор содержит *L. plantarum*, он предпочтительно содержит *L. plantarum subsp. plantarum*.

В пятом аспекте настоящее изобретение относится к способу, включающему этап нанесения композиции или набора, включающего:

- a) не менее двух, предпочтительно не менее трех, более предпочтительно не менее четырех, еще более предпочтительно не менее пяти различных микроорганизмов, при этом микроорганизмы выбираются из бактерий и дрожжей, причем, по крайней мере, один из микроорганизмов является бактерией и, по крайней мере, один представляет собой дрожжевой грибок (предпочтительно *S. cerevisiae*), при этом бактерии выбираются из группы, состоящей из *Lactobacillales*, *Rhizobiales* и *Bifidobacteriales*, и/или
- b) кальций, где кальций присутствует в форме хлорида кальция, карбоната кальция, ацетата кальция, цитрата кальция, пропионата кальция или лактата кальция, в частности, хлорида кальция, карбоната кальция или пропионата кальция,

на живое растение и/или растительные остатки.

В контексте способа изобретения в соответствии с пятым аспектом изобретения композиция может представлять собой композицию, определенную в контексте первого аспекта изобретения, или композицию в соответствии со вторым или третьим аспектом изобретения. Набор может, например, представлять собой набор согласно четвертому аспекту изобретения. Растение (и соответствующие растительные остатки) может являться снова (т.е. аналогично первому аспекту изобретения) любым типом растения, которое получает пользу от обработки согласно способу изобретения. Предпочтительно растение представляет собой сельскохозяйственную культуру. Особенно предпочтительными растениями являются растения, выбранные из группы мелкозерновых злаков, кукурузы и винограда. Авторы изобретения предусматривают, в частности, применение вышеупомянутого способа для растений (а также растительного материала соответствующих растений и т.д.), выбранных из группы, состоящей из пшеницы, ячменя, овса, ржи, тритикале, кукурузы, виноградной лозы, картофеля, сахарной свеклы, лука, яблони, масличного рапса или подсолнечника, в частности, пшеницы, кукурузы, виноградной лозы, картофеля, сахарной свеклы, лука, яблони, масличного рапса и подсолнечника. Наиболее предпочтительно растения выбираются из пшеницы и виноградной лозы.

Способ в соответствии с настоящим изобретением может, например, представлять собой способ улучшения здоровья растений, способ повышения устойчивости растений к патогенам растений, способ предотвращения или снижения загрязнения растительного материала микотоксинами, способ улучшения устойчивости растений к болезни растений (например, вызванной патогеном растений) и/или способ предотвращения образования перитециев патогена растений на растительных остатках.

Способ в соответствии с настоящим изобретением может включать нанесение композиции (или набора), содержащей микроорганизмы, как определено выше, на представляющее интерес растение или растительные остатки, а также нанесение композиции, содержащей кальций, как определено выше, на представляющее интерес растение или растительные остатки. Способ может также включать в себя нанесение на представляющее интерес растение как микроорганизмов, так и кальция, при этом нанесение на представляющее интерес растение может происходить параллельно (например, путем включения в одну и ту же композицию или путем параллельного

нанесения, но из разных контейнеров). В качестве альтернативного варианта композиция или набор могут быть нанесены на представляющее интерес растение или растительные остатки последовательно, начиная, например, с одного, более чем одного или всех микроорганизмов и последующего нанесения кальция (конечно, обратная последовательность также возможна).

Предпочтительно композицию или компоненты набора наносят в жидкой форме на растение или растительные остатки. Особенно предпочтительными являются способы нанесения, при которых композиция или компоненты набора наносятся на колосья или початки растения (при условии, что растение имеет колосья или початки, например, в случае пшеницы и кукурузы) или путем нанесения композиции или компонентов набора на листья растения. В вариантах осуществления, где композицию или компоненты набора наносят на листья растения (например, в случае пшеницы и кукурузы), предпочтительно, чтобы композиция или компоненты набора наносились на растение до появления колосьев или початков, например заранее за два-три дня.

Кроме того, способ в соответствии с настоящим изобретением также включает нанесение композиции или компонентов набора на растительные остатки (т.е. мертвый растительный материал). Как правило, это делается после сбора урожая и на растительных остатках, оставшихся в поле. Как правило, это происходит перед началом следующего вегетационного периода. Следующий вегетационный период не обязательно связан с тем же самым растением. Например, растительные остатки могут быть растительными остатками кукурузы, а следующий вегетационный период может относиться к выращиванию пшеницы на том же (или на соседнем) поле.

Если способ настоящего изобретения включает композицию (или набор), состоящую из хлорида кальция, то композицию (или кальциевый компонент набора) предпочтительно наносят на поле, на котором растет растение (или находятся растительные остатки) в концентрации от около 5 мМ до около 250 мМ, более предпочтительно от около 30 мМ до около 100 мМ. Например, в тех вариантах осуществления, где кальций обеспечивается в форме хлорида кальция, композиция (или набор) может содержать приблизительно от

0,3% до 3% хлорида кальция. Наиболее предпочтительный диапазон концентраций может незначительно варьироваться в зависимости от обрабатываемого растения.

Примеры

Ниже представлены конкретные примеры, иллюстрирующие различные варианты осуществления и аспекты изобретения. Однако объем настоящего изобретения не должен ограничиваться конкретными вариантами осуществления, описанными здесь. Действительно, различные модификации изобретения в дополнение к тем, которые описаны здесь, станут очевидными для специалистов из вышеприведенного описания, прилагаемой таблицы и приведенных ниже примеров. Все такие модификации входят в объем прилагаемой формулы изобретения.

Таблица 1. Обзор используемых компонентов.

Используемые компоненты	Химические вещества/микроорганизмы
Компонент А	Хлорид кальция
Компонент В	<i>Lactiplantibacillus plantarum subsp. plantarum</i> (предыдущее наименование <i>Lactobacillus plantarum</i>), <i>Lacticaseibacillus casei</i> (предыдущее наименование <i>Lactobacillus casei</i>), <i>Limosilactobacillus fermentum</i> (предыдущее наименование <i>Lactobacillus fermentum</i>), <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Компонент С	<i>Lactiplantibacillus plantarum subsp. plantarum</i> (предыдущее наименование <i>Lactobacillus plantarum</i>), <i>Lacticaseibacillus casei</i> (предыдущее наименование <i>Lactobacillus casei</i>), <i>Limosilactobacillus fermentum</i> (предыдущее наименование <i>Lactobacillus fermentum</i>), <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Bifidobacterium animalis</i> , <i>Rhodopseudomonas palustris</i>
Компонент D	Карбонат кальция из природных ресурсов
Компонент E	Пропионовая кислота, 99%
Компонент F	Хлорид магния
Компонент G	Натрий кремнекислый

Пример 1: Влияние микроорганизмов и кальция на живые злаковые растения (пшеница)

1.1 Первый маломасштабный опытный полевой сезон

Два сорта озимой пшеницы ("Lennox" и "Сапо") и два сорта яровой пшеницы ("Тгарре" и "Kronjet") были высеяны на делянках площадью 1 м² (96 делянок/сорт). Схема опыта в первом маломасштабном полевом сезоне представляла собой полностью рандомизированные блоки с 3 повторностями. В этих опытах вся делянка (1 м²) была обработана представляющими интерес вариантами.

Был использован особый метод искусственной инокуляции, для того чтобы максимально точно имитировать естественный процесс заражения фузариозом: так называемый метод зернового мицелия, в котором зерна кукурузы, колонизированные *F. graminearum*, распределяли на поверхности почвы между растениями пшеницы примерно за 3 недели до цветения (около 15 г/м²). На зернах образуются перитеции, которые выбрасывают аскоспоры в воздух. Эти споры заражали колосья пшеницы, что приводило к постоянному риску заражения в течение более длительного периода времени и, таким образом, близко имитировало естественный процесс заражения. Для поддержания заражения, на протяжении всего опыта осуществлялось орошение туманом с целью обеспечения достаточной влажности для возникновения болезни.

В таблице 2 приведены все прототипы, использованные в примере 1.1. Вариант опыта W1 содержит виды микроорганизмов (см. таблицу 1). Варианты W2-W4 относятся к катионам Ca²⁺, Mg²⁺ и Si³⁺. Их наносили только на колосья. Авторы изобретения намеренно выбрали высокую концентрацию катионов, для того чтобы убедиться в наличии эффектов (если они присутствуют), однако не слишком высокую, чтобы предотвратить фитотоксические реакции, вызванные чрезмерными концентрациями катионов.

Таблица 2. Сводная информация об условиях первого маломасштабного полевого опыта.

<u>Прототип</u>	<u>Микробный компонент</u>	<u>Концентрация</u>	<u>Кальциевый компонент</u>	<u>Концентрация</u>	<u>Другие компоненты</u>	<u>Концентрация</u>
Контрольный образец	-	-	-	-	-	-
W1	Компонент С	5 л/га			-	
W2	-		Компонент А	3%	-	
W3	-		-		Компонент F	10 кг/га
W4	-		-		Компонент G	10 кг/га
PPP					Folicur	1,5 л/га

Колосья обрабатывались после приблизительно 50% колошения пшеницы и незадолго до цветения (около 2-3 дней). В этом случае испытуемые вещества могут действовать через индукцию SIR. Но также возможно прямое взаимодействие с патогеном растений за счет физического контакта с тест-организмами/кальцием. Таким образом можно проверить и другие механизмы антагонизма, включая прямое ингибирование патогена или конкуренцию за питательные вещества. С этой целью с помощью ручного распылителя наносили суспензию/раствор в объеме 100 мл/делянку. Для каждого генотипа пшеницы авторы изобретения использовали 3 повторности каждой обработки и 10 контрольных делянок. Все обработки были полностью рандомизированы в пределах каждого генотипа пшеницы. В период цветения сортов пшеницы через день в течение приблизительно 20 часов осуществлялось орошение туманом с 20-секундными пульсациями воды, повторяемыми каждые 20 минут, для того чтобы способствовать заражению фузариозом. Инокулят непрерывно образуется в виде аскоспор, происходящих из перитециев, которые развиваются на зернах, колонизированных *Fusarium (Gibberella zae)*, распределенных по поверхности почвы.

В таблице 3 представлены данные об уменьшении симптомов ФНВ, оцененные через 21 день после цветения. Все основные колосья на участке (от 96 до 225 колосьев) оценивали на наличие симптомов ФНВ и рассчитывали процент больных колосьев. Заболеваемость (больные колосья) в контрольном образце была принята за 100%, а данные обработки выражены в процентах от необработанного контрольного образца. Например, для обработки фунгицидом (PPP) "Folicur®" (действующее вещество: тебуконазол, Bayer Crop Science) средний уровень симптомов по сравнению с контрольным образцом для всех генотипов составил 32% (данные не показаны): это представляет собой уменьшение симптомов на 68% по сравнению с контрольным образцом. С данными о заболеваемости проводились анализы ANOVA.

Таблица 3. Сводная информация о результатах первого маломасштабного полевого опыта.

Генотип / сорт	Используемый прототип	Обрабатываемая часть	Уменьшение симптомов (% заболеваемости)
-----------------------	------------------------------	-----------------------------	--

Сапо, Lennox, Траппе, Kronjet	Контрольный образец	без обработки	-
	PPP	колос	68***
	W1	колос	23**
	W2	колос	29*
	W3	колос	ns
	W4	колос	ns

***, $p \leq 0.001$ (очень значительное); **, $p \leq 0.01$; *, $p \leq 0.05$; +, $p \leq 0.10$; ns, $p > 0.10$ (незначительное)

Результаты являются следующими (см. таблицу 3):

- 1) Фунгицид Folicur® (PPP) продемонстрировал наибольшее уменьшение симптомов: снижение на 68% по сравнению с обработкой контрольного образца.
- 2) Вариант микробиологической обработки W1 уменьшил симптомы на 23%.
- 3) Вариант W2, содержащий кальций, привел к значительному уменьшению симптомов FHB на 29%.
- 4) Кремний и магний не влияли на уменьшение симптомов FHB даже при применении в высоких концентрациях.

1.2 Второй маломасштабный опытный полевой сезон

Во втором маломасштабном полевом сезоне снова были исследованы наиболее эффективные виды обработки первого полевого опыта, которые включали кальций и микробные компоненты, теперь уже в комбинации, вместе с новыми обработками-прототипами, приведенными в таблице 4. Методы испытания и анализа были идентичны описанным в первом опыте со следующими исключениями:

Во второй сезон обрабатывалась только половина делянки (3 ряда). Вторая половина делянки не обрабатывалась, выполняя функцию непосредственного контрольного образца для исследуемых прототипов (5 повторностей). Из-за сложных погодных

условий во время появления колоса только один сорт, "Тгарре", мог быть окончательно оценен на симптомы FHB (таблица 5).

Таблица 4. Сводная информация об условиях второго полевого опыта.

Прототип	Микробный компонент	Концентрация	Кальциевый компонент	Концентрация	Другие компоненты	Концентрация
Контрольный образец	-	-	-	-	-	-
W6	Компонент В	1 л/га	Компонент А	0,9%	-	
W12	<i>Lacticaseibacillus casei</i> 1 (одиночный штамм)	3 л/га	-			
W13	<i>Limosilactobacillus fermentum</i> 1 (одиночный штамм)	3 л/га	-			
W14	<i>Limosilactobacillus fermentum</i> 2 (одиночный штамм)	3 л/га	-			
W15	<i>Limosilactobacillus fermentum</i> 3 (одиночный штамм)	3 л/га	-			
W16	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> 1 (одиночный штамм)	3 л/га	-			
W17	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> 2 (одиночный штамм)	3 л/га	-			

Прототип	Микробный компонент	Концентрация	Кальциевый компонент	Концентрация	Другие компоненты	Концентрация
W18	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> 3 (одиночный штамм)	3 л/га	-			
W19	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> 4 (одиночный штамм)	3 л/га	-			
W20	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 1 (одиночный штамм)	3 л/га	-			
W21	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2 (одиночный штамм)	3 л/га	-			
W22	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 3 (одиночный штамм)	3 л/га	-			
W23	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4 (одиночный штамм)	3 л/га	-			
W25	-		Компонент D	3 кг/га		
PPP					Folicur®	1,5 л/га

В этом опыте использовалась новая композиция с уменьшенным количеством микробных штаммов в сочетании с кальцием (W6). Кроме того, отдельные штаммы были проанализированы на потенциальное влияние на снижение ФНВ (W12-23) (см. таблицу 4). С одной стороны, все одиночные штаммы, входящие в состав микробного компонента В, подвергались скринингу. Кроме того, дополнительные отдельные штаммы одного и

того же вида, приобретенные из общедоступных депозитариев, были оценены на предмет потенциального воздействия на уменьшение симптомов FHB. Наконец, еще один вариант кальция, карбонат кальция (CaCO_3) из природных источников также был протестирован на уменьшение симптомов (W25).

Таблица 5. Сводная информация о результатах второго полевого опыта.

Генотип / сорт	Используемый прототип	Обрабатываемая часть	Уменьшение симптомов (% заболеваемости)
Тгарре	Контрольный образец	без обработки	-
	PPP	колос	56**
	W6	колос	28***
	W12	колос	ns
	W13	колос	ns
	W14	колос	ns
	W15	колос	ns
	W16	колос	ns
	W17	колос	ns
	W18	колос	ns
	W19	колос	ns
	W20	колос	ns
	W21	колос	ns
	W22	колос	ns
	W23	колос	ns
W25	колос	13*	

В результате при применении отдельных микробных штаммов (W12-W23) значительного уменьшения симптомов не наблюдалось (см. таблицу 5). Карбонат кальция сам по себе уменьшал симптомы FHB на 13%, в то время как комбинация микробного компонента В вместе с CaCl_2 уменьшала симптомы на 28%. Общий риск заражения в этом полевым испытании было высоким, так как химический препарат PPP Folicur® уменьшал симптомы FHB не более чем на 58%.

1.3 Первый вегетационный опыт

Два сорта пшеницы ("Remus", яровая пшеница, восприимчивая к фузариозу колоса (FHB), и "Сапо", озимая пшеница, среднеустойчивая) были высеваны в сосуды (10 растений/сосуд с 7 л субстрата) в вегетационном домике. Субстрат представлял собой смесь компоста, торфа и песка. Минеральные удобрения вносили в период кущения. Для

каждой обработки случайным образом отбирали 4 сосуда и обрабатывали их одинаковым образом. 4 сосуда помещали в вегетационный домик и оценивали вместе (как квадратную единицу, состоящую из 4 соседних сосудов). В опытах использовали 3-4 повторности (по четыре сосуда в каждой).

Споровые суспензии патогена растений *F. graminearum* получали в бульоне маша методом пузырькового размножения и небольшие аликвоты замораживали при -80°C до использования. Конечные суспензии спор содержали либо 20000 (низкая концентрация для использования на "Remus"), либо 50000 (высокая концентрация для использования на "Сапо") *Fusarium macroconidia*/мл.

Для обработки колосьев количество продукта, необходимое для площади (0,038 м²/сосуд), суспендировали в 20 мл воды. Тестовые организмы/катионы наносили распылением суспензии на колосья после колошения, но не менее чем за 2-3 дня до цветения. Также смачивалась часть листового полога (особенно флаговой лист). Это делалось для каждого сосуда индивидуально. С помощью данной стратегии можно протестировать комбинацию нескольких механизмов антагонистов, включая индукцию системной индуцированной резистентности (SIR), а также прямой антагонизм, такой как конкуренция за питательные вещества, а также прямое ингибирование патогена (кальция).

Во время цветения колосья в каждом сосуде обрабатывали суспензией спор *Fusarium*. Для этого 20 мл суспензии спор низкой или высокой концентрации наносили ручным распылителем на цветущие колосья в каждом сосуде. Затем колосья закрывали полиэтиленовым пакетом на 24 или 48 часов, для того чтобы обеспечить достаточную влажность для заражения. Во время опыта температура в вегетационном домике составляла 18/20°C (ночь/день), и растения ежедневно освещались в течение 16 часов.

Таблица 6. Сводная информация об условиях первого вегетационного опыта.

Прототип	Микробный компонент	Концентрация	Кальциевый компонент	Концентрация	Другие компоненты
Контрольный образец	-	-	-	-	-
W5	Компонент В	1 л/га	Компонент А	1,5%	-

W6	Компонент В	1 л/га	Компонент А	0,9%	-
W7	Компонент В	1 л/га	Компонент D, 25 г + Компонент E 57 мл вода дистиллированная 1 л	5 л/га	-
W8	Компонент В	1 л/га	Компонент D, 25 г + Компонент E 57 мл вода дистиллированная 1 л	10 л/га	-

В первом вегетационном опыте комбинация микробного компонента В и CaCl_2 была протестирована при различных концентрациях CaCl_2 (W5-6) (см. таблицу 6). Кроме того, были протестированы дополнительные варианты кальция, которые включали CaCO_3 в смеси с пропионовой кислотой с получением пропионата кальция из природных источников (W7-8). Опыт дополнительно включал необработанный контрольный образец для сравнения.

Через 7, 11, 15 и 18/19 дней после инокуляции оценивали 2 параметра болезни: заболеваемость (% пораженных колосьев) и тяжесть болезни (% пораженных колосков только по пораженным колосьям). После этого рассчитывали интенсивность заболевания (% пораженных колосков по всем колосьям). В конце для каждого параметра болезни рассчитывали % уменьшения симптомов (по сравнению с обработкой контрольного образца). Для статистического анализа были выполнены анализы ANOVA.

Таблица 7. Сводная информация о результатах первого вегетационного опыта.

Генотип / сорт	Используемый прототип	Уменьшение симптомов (%)		
		Заболеваемость %	Тяжесть болезни %	Интенсивность болезни %
Remus	Контрольный образец	-	-	-
	W5	33,9*	18,2ns	45,7**
	W6	61,6**	30,5*	72,4***
	W7	ns	ns	32,7*
	W8	ns	ns	ns

В результате только один из прототипов, содержащих пропионат кальция (W8), в сочетании с компонентом В не оказал статистически значимого влияния на уменьшение симптомов FHB. Все остальные прототипы приводили к снижению интенсивности болезни. В целом варианты, включающие хлорид кальция (W5-6), показали лучшие

результаты в снижении симптомов болезни. Однако снижение внесения CaCl_2 с 5 л/га до 3 л/га, как показано для прототипа W6, привело к даже лучшему результату и снижению интенсивности болезни на 72,4% по сравнению с W5 со снижением на 45,7%.

1.4 Второй вегетационный опыт

Этот опыт был проведен и оценен таким же образом, как и первый вегетационный опыт (см. 1.3), за исключением того, что в этот опыт были включены два сорта яровой пшеницы, Caro и Remus.

Таблица 8. Сводная информация об условиях второго вегетационного опыта.

Прототип	Микробный компонент	Концентрация	Кальциевый компонент	Концентрация	Другие компоненты	Концентрация
Контрольный образец	-	-	-	-	-	-
W6	Компонент В	1 л/га	Компонент А	0,9%	-	
W9	Компонент В	1 л/га	Компонент D (CaCO_3)	3 кг/га	-	
W10	Компонент В	1 л/га	Компонент D, 120 г + Компонент E 220 мл вода дистиллированная 1 л	7.5 л/га	-	
W11	Компонент В	1 л/га	Компонент D, 120 г + Компонент E 220 мл вода дистиллированная 1 л	5 л/га	-	
PPP					Folicur®	1,5 л/га

В этом опыте микробный компонент В снова комбинировался с различными вариантами кальция, включая CaCl_2 (W6), CaCO_3 (W9) или пропионат кальция (W10-11), а также с фунгицидом Folicur (см. таблицу 8).

Таблица 9. Сводная информация о результатах второго вегетационного опыта.

Генотип / сорт	Используемый прототип	Уменьшение симптомов (%)		
		Заболееваемость %	Тяжесть болезни %	Интенсивность болезни %
Remus, Caro	Контрольный образец	-	-	-
	PPP	55,3*	61,5**	82,4**
	W6	26,9*	17,6*	39,7*
	W9	ns	ns	26,5*
	W10	9,3+	ns	21*
	W11	ns	ns	ns

Точно так же, как и в первом вегетационном опыте, комбинация микробного компонента В с различными вариантами кальция дала следующие результаты (см. таблицу 9): CaCl₂ привел к наибольшему уменьшению (W6, 39,7%), CaCO₃ (W9) показал менее выраженное уменьшение 26,5%, а CaCO₃ плюс пропионовая кислота (W10) продемонстрировали либо небольшое уменьшение на 21% (W10), либо отсутствие значительного уменьшения (W11). Фунгицид Folicur уменьшил симптомы на 82,4%.

1.5 Третий вегетационный опыт

Третий вегетационный опыт проводили и оценивали таким же образом, как и первый вегетационный опыт (см. 1.3), за исключением того, что в этом опыте использовали только сорт озимой пшеницы Caro.

Таблица 10. Сводная информация об условиях третьего вегетационного опыта.

Прототип	Микробный компонент	Концентрация	Кальциевый компонент	Концентрация	Другие компоненты	Концентрация
Контрольный образец	-	-	-	-	-	-
W6	Компонент В	1 л/га	Компонент А	0,9%	-	
W9	Компонент В	1 л/га	Компонент D	3 кг/га	-	
W10	Компонент В	1 л/га	Компонент D, 120 г + Компонент Е 220 мл вода	7.5 л/га	-	

Прототип	Микробный компонент	Концентрация	Кальциевый компонент	Концентрация	Другие компоненты	Концентрация
			дистиллированная 1 л			
W24	-		Компонент D	1,5 кг/га		
PPP					Folicur®	1,5 л/га

Во втором вегетационном опыте микробный компонент В снова комбинировали с различными вариантами кальция, включая CaCl_2 (W6), CaCO_3 (W9, W24) и пропионат кальция (W10), а также с фунгицидом Folicur (см. таблицу 10).

Таблица 11. Сводная информация о результатах третьего вегетационного опыта.

Генотип / сорт	Используемый прототип	Уменьшение симптомов (%)		
		Заболеваемость %	Тяжесть болезни %	Интенсивность болезни %
Сапо	Контрольный образец	-	-	-
	PPP	29,2+	ns	54,6*
	W6	25,7+	26,3+	47,9*
	W9	ns	22,5+	ns
	W10	ns	21,8+	27,6+
	W24	ns	ns	ns

Точно так же, как и в первом и втором вегетационном опыте, комбинация микробного компонента В с различными вариантами кальция привела к определенным эффектам, при этом CaCl_2 приводил к максимальному уменьшению интенсивности болезни (W6, 47,9%), достигая почти уровня PPP (54,6) (см. таблицу 11). В этом опыте CaCO_3 (W9) значительно уменьшал только тяжесть болезни, но не общую интенсивность, более низкая концентрация CaCO_3 не оказывала значительного эффекта (W24). CaCO_3 плюс пропионовая кислота (W10) снова показали снижение интенсивности болезни на 27,6 %.

1.6 Первый крупномасштабный опытный полевой сезон

Целью этих опытов являлась проверка перспективных компонентов в реальных практических условиях. Это означает, что фермеры применяли прототипы на собственном оборудовании. Фермы располагались в трех важных климатических регионах Австрии: Северо-Альпийский регион (влажный и теплый), Паннония (сухой и

жаркий) и Иллирик (влажный и жаркий). Данный подход дает хорошее представление об эффективности прототипа в различных условиях окружающей среды. Поля, выбранные для опытов, являлись обычными полями, используемыми для земледелия. Во всех случаях предшествующей культурой была кукуруза, что приводит к более высокой вероятности заражения пшеницы фузариозом в следующем сезоне.

Использовались хорошо повторяющиеся опыты с надлежащими статистическими расчетами. Опыты включали в себя повторности (обычно от 3 до 4), и были приняты меры к тому, чтобы соответствующие контрольные образцы (= без обработки) находились рядом с обработанными вариантами (прототип W6). Прототип наносили в заданной концентрации (в л/га) на колосья после 50% колошения или вскоре после этого, но не позднее, чем за 2-3 дня до цветения. Заражение фузариозом происходило в естественных условиях, поэтому искусственное заражение спорами фузариоза не проводилось. Риск заражения варьировался с учетом местоположения в зависимости от различных климатических условий во время цветения, от низкого до высокого общего уровня заражения фузариозом.

Через две-три недели после цветения оценивали заболевание ФНВ. С этой целью до 500 колосьев визуально оценивали на наличие типичных симптомов ФНВ, включая водянистые пятна и распространение болезни (увядшие колоски или сегменты колосьев). Каждый колос классифицировали как больной или здоровый и рассчитывали заболеваемость (DI = процент больных колосьев). Рассчитывали процент уменьшения симптомов (по сравнению с контрольным образцом).

Таблица 12. Сводная информация о результатах крупномасштабного полевого опыта.

Местоположение	Обрабатываемый прототип	Обрабатываемая часть	Уменьшение симптомов (в %)
Местоположение 1 (низкий риск заражения)	Контрольный образец	без обработки	-
	W6	колос	49,7*
Местоположение 2 (низкий-средний риск заражения)	Контрольный образец	без обработки	-
	W6	колос	45,7*
Местоположение 3 (высокий риск заражения)	Контрольный образец	без обработки	-

	W6	колос	22,8**
--	----	-------	--------

Результаты (см. таблицу 12) показывают, что по сравнению с необработанным контрольным образцом комбинация микробных и кальциевых компонентов, использованная в прототипе W6, приводит к уменьшению симптомов FHB во всех местоположениях. В зависимости от климатических условий и риска заражения в полевых условиях симптомы FHB уменьшались на 49,7% и 45,7% соответственно в местоположениях с низким и средним риском заражения. При высоком риске заражения фузариозом все еще можно было наблюдать снижение симптомов FHB на 22,8%. В целом, результаты, полученные с прототипом W6, достаточно хорошо соответствовали всем используемым генотипам и системам испытаний, от вегетационных до крупномасштабных полевых.

1.7 Второй крупномасштабный опытный полевой сезон

Во второй крупномасштабный полевой сезон снова были исследованы виды обработки первого полевого опыта, которые включали кальциевые и микробные компоненты. Методы испытания и анализа были идентичны описанным в первом опыте со следующими исключениями:

- В анализ был включен только один участок в Верхней Австрии из-за сильной засухи в других частях страны, где не наблюдалось заражения фузариозом.
- На этот раз испытание включало 2 варианта обработки: (1) однократная обработка, как описано в 1.6, и (2) двукратная обработка при появлении флагового

листа (около ВВСН 37-39) и при появлении 50% колосьев (около ВВСН 55) или вскоре после этого.

- С этой целью 250 колосьев были визуальнo оценены на наличие типичных симптомов ФНВ, включая водянистые пятна и распространение болезни (увядшие колоски или сегменты колосьев).

Таблица 13. Сводная информация об условиях и результатах второго крупномасштабного опытного полевого сезона.

Местоположение	Обрабатываемый прототип	Обрабатываемая часть	Уменьшение симптомов (в %)
Местоположение с высоким риском заражения	Контрольный образец	без обработки	-
	W6 – однократно	колос	30,6+
	W6 – двукратно	флаговый лист, колос	68,0***

Результаты второго крупномасштабного опытного полевого сезона приведены в таблице 13 и снова показывают снижение симптомов примерно на 30% даже при высоком риске заражения при однократном нанесении прототипа W6. Двукратное нанесение прототипа W6 привело к значительному уменьшению симптомов на 68%. Опять же, эти данные согласуются с тем, что можно было наблюдать в предыдущих испытаниях и при других условиях испытаний.

Пример 2: Влияние микроорганизмов и кальция на образование перитециев на растительных остатках

Уменьшение первичного инокулята гриба является одной из наиболее важных стратегий борьбы с фузариозом. *F. graminearum* сапрофитно выживает зимой на растительных остатках. Аскоспоры (половые споры) *Gibberella zeae* (= совершенная форма *F. graminearum*), которые образуются в асках плодовых тел гриба (перитециев), служат в качестве основного инокулята весной. Аскоспоры принудительно высвобождаются из перитеция, попадают на восприимчивые части растения и начинают заражение. Таким образом, ингибирование образования перитециев на зараженных фузариозом

растительных остатках зерновых и кукурузы прошлого сезона приводит к снижению заражения новых посевов.

Таким образом, авторы изобретения стремились найти средства для ингибирования образования перитециев на растительных остатках.

Для полевого опыта стебли кукурузы сначала разрезали на части длиной 7 см, а затем каждую часть продольно разрезали пополам. Половины трех частей стебля были помещены в 10-сантиметровый автоклавируемый пластиковый сетчатый мешок, а соответствующие половины тех же частей были помещены в отдельный мешок, помеченный таким образом, чтобы можно было легко идентифицировать две соответствующие половины одного и того же стебля для оценки опыта. Один мешок использовали для обработки антагонистами, а другой служил контрольным образцом. Для каждой обработки или контрольного образца использовали 12 мешков, содержащих в общей сложности 36 частей стеблей (36 повторностей). Части в мешках погружали в дистиллированную воду на ночь и после слива воды помещали в алюминиевые лотки и затем автоклавировали. Затем мешки погружали на 3 минуты в конидиальную суспензию (3×10^4 спор/мл) штамма *G. zae* с высоким образованием перитециев. Инокулированные части инкубировали при 22°C в темноте в течение 48 часов.

Таблица 14. Сводные результаты по вариантам, которые исследовались при анализе перитециев на стеблях кукурузы.

	Микробный компонент	Концентрация	Кальциевый компонент	Концентрация	Другое	Концентрация
Контрольный образец	-	-	-	-	-	-
Прототип М1	-		Компонент А	33%		
Прототип М2	Компонент В	в неразбавленном виде	-			
PPP					Folicur®	1,5 л/га

Для обработки один из двух соответствующих мешков опрыскивали соответствующими вариантами прототипа (см. таблицу 14) до стекания, а второй мешок опрыскивали только стерильной дистиллированной водой. Мешки оставляли на ночь в лаборатории при комнатной температуре (RT), а на следующий день переносили на поле пшеницы или кукурузы и произвольно помещали на поверхность почвы между растениями пшеницы

или кукурузы. Через 3-4 недели мешки оценивали и подсчитывали количество перитециев на общей площади 1 см² поверхности стебля кукурузы.

Затем рассчитывали процент уменьшения перитециев при обработках по сравнению с контрольным образцом. Для статистического анализа были выполнены анализы ANOVA.

Таблица 15. Результаты анализа перитециев на стеблях кукурузы.

Используемый прототип	Обрабатываемая часть	Уменьшение перитециев (%)
Контрольный образец	стебли кукурузы	-
Химическое вещество РРР	стебли кукурузы	48,74***
М1	стебли кукурузы	69,79***
М2	стебли кукурузы	60,09**

В результате М1, содержащий кальций, уменьшал количество перитециев на стеблях кукурузы в поле приблизительно на 70%, а микробная композиция М2 подавляла образование перитециев на 60% (см. таблицу 15). Коммерческий химический фунгицид РРР уменьшал количество перитециев только приблизительно на 49%.

Пример 3: Влияние микроорганизмов и кальция на другие болезни сельскохозяйственных культур

3.1 Ложная мучнистая роса на виноградной лозе

Авторы изобретения также наблюдали, что микроорганизмы и кальций, по отдельности или в комбинации, снижали воздействие других болезней на другие сельскохозяйственные культуры. Соответствующие результаты были получены для

ложной мучнистой росы (*Plasmopara viticola*, "Peronospora") и мучнистой росы (*Erysiphe necator*, "Oidium") на виноградных лозах и *Fusarium oxysporum* на луке.

Были проведены испытания на уменьшение симптомов Peronospora с использованием листовых дисков виноградной лозы. Испытания проводились следующим образом. Десять листовых дисков сначала инокулировали прототипами в течение 20 мин, а затем обрабатывали споровой суспензией (20000 спорангиев/мл) гриба до тех пор, пока из спорангиев не выделялись зооспоры. После этого листовые диски помещали на чашки с водным агаром и инкубировали в течение 5 суток при 23°C (16 ч света/8 ч темноты). Следовательно, тяжесть болезни рассчитывали путем измерения процентной доли пораженной площади диска. Обработки контрольных образцов включали либо использование воды, либо применение имеющегося в продаже средства защиты растений на основе меди Cuprozin.

Таблица 16. Сводные результаты по вариантам, которые исследовались при анализе листовых дисков виноградной лозы.

Прототипы	Микробный компонент	Концентрация	Кальциевый компонент	Концентрация	Другое	Концентрация
G1	-		Компонент А	2%		
G2	Компонент В	1%				
G3	Компонент В	1%	Компонент А	2%		
PPP					Cuprozin	0,30%

Таблица 17. Сводные результаты влияния различных обработок на Peronospora в виноградной лозе в зависимости от тяжести болезни.

Используемый прототип	Обрабатываемая часть	Уменьшение симптомов (тяжесть болезни, %)
Контрольный образец	Листовой диск	-
PPP	Листовой диск	100***
G1	Лист	50.9**
G2	Лист	7,3ns

Используемый прототип	Обрабатываемая часть	Уменьшение симптомов (тяжесть болезни, %)
G3	Лист	68,3***

Эти данные показывают, что композиция микроорганизмов, а также ионы кальция эффективны против различных болезней растений и патогенов, и что этот эффект сильнее и значительнее при совместном применении (см. таблицу 17).

3.2 Пятнистость листьев сахарной свеклы

Cercospora beticola и *Ramularia betae* являются возбудителями пятнистости листьев сахарной свеклы. Испытания по борьбе с пятнистостью листьев сахарной свеклы были проведены в регионе Нижняя Австрия в реальных практических условиях. Это означает, что фермеры применяли прототипы с использованием собственного оборудования. Поля, выбранные для испытаний, являлись обычными полями, используемыми для земледелия.

Два соседних ряда были обработаны прототипом W6, за исключением того, что концентрация компонента А была снижена до 2 л/га. Всего в течение сезона было проведено 4-5 обработок W6, начиная от приблизительно ВВСН39 и заканчивая последней обработкой около ВВСН 85. Второй ряд обрабатывали по обычному плану защиты растений с использованием 3-5 обработок коммерческими фунгицидами.

Естественное заражение происходило в течение полевого сезона, но особенно в августе и начале сентября из-за сильных дождей.

Оценка и классификация симптомов основывались на процедуре, предложенной в руководстве ЕРРО РР1-4 – болезни листьев сахарной свеклы. Оценивали по 20 растений на обработку, расположенных в непосредственной близости друг от друга. Для оценки рассматривали только листья среднего возраста. На наличие симптомов оценивали от 7 до 15 листьев каждого растения. Частота заболеваний на обработку рассчитывалась как средневзвешенное значение числа растений, подвергшихся оценке, в %.

Таблица 18. Сводные результаты влияния двух различных обработок на пятнистость листьев сахарной свеклы.

Оценка	Фунгицид	Прототип W6
0,1%	8	1
1%	7	5
2%	3	5
5%	2	6
10%	0	3
25%	0	0
35%	0	0
45%	0	0
60%	0	0
>60%	0	0
Средняя заболеваемость (%)	1,19	3,75

Обработанная фунгицидом сахарная свекла показала очень низкий уровень заражения грибами, вызывающими пятнистость листьев (1,19%). Обработка прототипом W6 также привела к низкому уровню заражения (3,75%) несмотря на то, что погодные условия в течение полевого сезона были очень благоприятны для роста грибов (таблица 18).

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение композиции или набора, которые включают:
 - а) по крайней мере, два различных микроорганизма, причем микроорганизмы выбраны из бактерий и дрожжей, при этом, по крайней мере, один из микроорганизмов представляет собой бактерию и, по крайней мере, один из них представляет собой дрожжевой гриб, и при этом бактерии выбраны из группы, состоящей из *lactobacillales*, *rhizobiales* и *bifidobacteriales*; и/или
 - б) кальций, где кальций присутствует в форме хлорида кальция, ацетата кальция, цитрата кальция, пропионата кальция, карбоната кальция, лактата кальция, в частности, хлорида кальция, карбоната кальция или пропионата кальция, для улучшения здоровья растений, повышения устойчивости растений к патогенам растений, предотвращения или снижения загрязнения растительного материала микотоксинами, повышения устойчивости растений к болезням растений, вызываемым патогеном растений, предотвращения образования перитециев патогена растений на растительных остатках, защиты растений и/или в качестве стимулятора роста растений.
2. Применение по п. 1, отличающееся тем, что растение выбрано из группы, состоящей из мелкозерновых злаков, кукурузы, виноградной лозы, картофеля, сахарной свеклы, лука, яблони, масличного рапса и подсолнечника.
3. Применение по п. 2, отличающееся тем, что растение выбрано из группы, состоящей из пшеницы, ячменя, овса, ржи, тритикале, кукурузы, виноградной лозы, в частности, выбрано из группы, состоящей из пшеницы, кукурузы и виноградной лозы.
4. Применение по п. 1-3, отличающееся тем, что композиция или набор содержат бактерию, выбранную из группы, состоящей из *L. fermentum*, *L. casei* и *L. plantarum* (предпочтительно подвида *L. plantarum subsp. plantarum*).
5. Применение по п. 1-4, отличающееся тем, что композиция или набор содержат *S. cerevisiae*.

6. Применение по п. 1-5, отличающееся тем, что, по крайней мере, два различных микроорганизма выбраны из следующих микроорганизмов: *L. fermentum*, *L. casei*, *L. plantarum*, *S. cerevisiae*, *R. palustris*; *Bifidobacterium bifidum* и *B. animalis*, предпочтительно из *L. fermentum*, *L. casei*, *L. Plantarum*, предпочтительно из подвидов *L. plantarum subsp. Plantarum*, и *S. cerevisiae*.
7. Применение по п. 1-6, отличающееся тем, что композиция или набор содержат, по крайней мере, два разных микроорганизма и кальций.
8. Применение по п. 1-7, отличающееся тем, что композицию или набор используют для повышения устойчивости растений к болезни растений, при этом болезнь растений представляет собой фузариоз колоса, фузариоз початков, ложную мучнистую росу, мучнистую росу, фитофтороз картофеля, церкоспорозную пятнистость листьев, рамуляриозную пятнистость листьев, паршу яблони, корневую гниль, склеротиниоз и гниль корзинки; в частности, фузариоз колоса и фузариоз початков.
9. Применение по п. 1-8, отличающееся тем, что композицию или набор используют для повышения устойчивости растений к патогену растений, повышения устойчивости растений к болезням растений, вызываемым патогеном растений, и/или предотвращения образования перитециев патогена растений на растительных остатках, и где патоген растений выбран из группы, состоящей из *Fusarium graminearum*, *Plasmopara viticola*, *Erysiphe necator*, *Phytophthora infestans*, *Cercospora beticola*, *Ramularia betae*, *Venturia inaequalis*, *Podosphaera leucotricha*, *Fusarium oxysporum* и *Sclerotinia sclerotiorum*.
10. Применение по п. 9, отличающееся тем, что патоген представляет собой *Fusarium graminearum*, а растение представляет собой пшеницу или кукурузу.
11. Применение по п. 1-10, отличающееся тем, что композиция или набор содержат *L. plantarum subsp. plantarum*.

12. Композиция, содержащая, по крайней мере, два микроорганизма и, в качестве варианта, кальций, при этом, по крайней мере, один из микроорганизмов представляет собой бактерию и, по крайней мере, один из них представляет собой *S. cerevisiae*, и среди бактерий имеются *lactobacillales*, и при этом композиция не содержит *R. palustris*.
13. Композиция, содержащая, по крайней мере, следующие бактерии: *L. fermentum*, *L. casei*, два различных вида штаммов *L. plantarum* и, по крайней мере, два штамма *S. cerevisiae* и, в качестве варианта, содержащая кальций.
14. Композиция согласно пункту 12 или 13, где композиция содержит *L. plantarum subsp. plantarum*.
15. Способ, включающий этап нанесения композиции или набора, которые включают:
 - а) по крайней мере, два различных микроорганизма, при этом микроорганизмы выбраны из бактерий и дрожжей, при этом, по крайней мере, один из микроорганизмов представляет собой бактерию и, по крайней мере, один из микроорганизмов представляет собой *S. cerevisiae*, и при этом бактерии выбраны из группы, состоящей из *lactobacillales*, *rhizobiales* и *bifidobacteriales* и, в качестве варианта
 - б) кальций, где кальций присутствует в форме хлорида кальция, ацетата кальция, цитрата кальция, пропионата кальция, карбоната кальция, лактата кальция, в частности хлорида кальция, карбоната кальция или пропионата кальция, на живое растение и/или растительные остатки.
16. Способ по п. 15, отличающийся тем, что композицию или компоненты набора наносят на колос или лист живого растения, предпочтительно на лист.
17. Способ по п. 15, отличающийся тем, что композицию или компоненты набора наносят на растительные остатки.
18. Способ по п. 15, отличающийся тем, что композиция или набор содержат хлорид кальция, и при этом хлорид кальция наносят на поле, содержащее живое растение

или растительные остатки в диапазоне от около 0,3% до 5% (масса/объем), предпочтительно от 0,3 до 0,9% (масса/объем).

19. Способ по п. 15-18, отличающийся тем, что растение выбирают из группы, состоящей из мелкозерновых злаков, кукурузы, виноградной лозы, картофеля, сахарной свеклы, лука, яблони, масличного рапса и подсолнечника.
20. Способ по п. 19, отличающийся тем, что растение выбирают из группы, состоящей из пшеницы, ячменя, овса, ржи, тритикале, кукурузы, виноградной лозы, в частности, выбирают из группы, состоящей из пшеницы, кукурузы и виноградной лозы.
21. Способ по п. 15-20, отличающийся тем, что композиция или набор содержат бактерию, выбранную из группы, состоящей из *L. fermentum*, *L. casei* и *L. plantarum*.
22. Способ по п. 15-21, отличающийся тем, что, по крайней мере, два различных микроорганизма выбраны из следующих микроорганизмов: *L. fermentum*, *L. casei*, *L. plantarum*, *S. cerevisiae*, *R. palustris*; *Bifidobacterium bifidum* и *B. animalis*, предпочтительно из *L. fermentum*, *L. casei*, *L. plantarum* и *S. cerevisiae*.
23. Способ по п. 15-22, отличающийся тем, что указанный способ применяют для повышения устойчивости растений к болезням растений, причем болезнь растений представляет собой фузариоз колоса, фузариоз початков, ложную мучнистую росу, мучнистую росу, фитофтороз картофеля, церкоспорозную пятнистость листьев, рамуляриозную пятнистость листьев, паршу яблони, корневую гниль, склеротиниоз и гниль корзинок; в частности, фузариоз колоса и фузариоз початков.
24. Способ по п. 15-23, где способ используют для повышения устойчивости растений к патогену растений, повышения устойчивости растений к болезням растений, вызываемым патогеном растений, и/или предотвращения образования перитециев патогена растений на растительных остатках, и где патоген растений выбран из группы, состоящей из *Fusarium graminearum*, *Plasmopara viticola*, *Erysiphe necator*, *Phytophthora infestans*, *Cercospora beticola*, *Ramularia betae*, *Venturia inaequalis*, *Podosphaera leucotricha*, *Fusarium oxysporum* и *Sclerotinia sclerotiorum*.

25. Способ по п. 15-24, где патоген растений представляет собой *Fusarium graminearum*, а растение представляет собой пшеницу или кукурузу.
26. Способ по п. 15-25, где композиция или набор содержат *L. plantarum subsp. plantarum*.