

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **045948**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента  
**2024.01.22**

(21) Номер заявки  
**201990651**

(22) Дата подачи заявки  
**2017.09.08**

(51) Int. Cl. **C12M 3/00** (2006.01)  
**C12M 1/34** (2006.01)  
**A01N 63/00** (2006.01)  
**C05F 11/08** (2006.01)  
**C07K 17/00** (2006.01)

---

(54) **РАСПРЕДЕЛЯЕМЫЕ СИСТЕМЫ ДЛЯ ЭФФЕКТИВНОГО ПРОДУЦИРОВАНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ КОМПОЗИЦИЙ НА ОСНОВЕ МИКРООРГАНИЗМОВ**

---

(31) **62/385,057**

(32) **2016.09.08**

(33) **US**

(43) **2019.08.30**

(86) **PCT/US2017/050711**

(87) **WO 2018/049182 2018.03.15**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
**ЛОКУС АЙПИ КОМПАНИ, ЭЛЭЛСИ  
(US)**

(72) Изобретатель:  
**Фармер Шон, Зорнер Пол С., Алибек  
Кен, Адамс Кент, Диксон Тайлер (US)**

(74) Представитель:  
**Медведев В.Н. (RU)**

(56) **US-A1-20130324406**  
**WO-A2-2015089183**  
**US-A1-20120058895**  
**KURTZMAN, CLETUS P. et al., 'Production of**  
**sophorolipid biosurfactants by multiple species of the**  
**Starmerella (Candida) bombicola yeast clade', FEMS**  
**Microbiology Letters, 25 August 2010(online), Vol.**  
**311, pp. 140-146 See abstract; pages 144 and 145.**  
**US-A1-20150118203**

---

(57) Изобретение относится к системам и способам для эффективного продуцирования и применения микроорганизмов и/или ферментационной среды, в которой их продуцируют. Преимущественно, система является экономичной, масштабируемой, быстрой, универсальной, эффективной и полезной для уменьшения резистентности к химическим соединениям и остатков, которые вызывают беспокойство потребителей.

---

**B1**

**045948**

**045948**  
**B1**

### **Перекрестная ссылка на родственную заявку**

По данной заявке испрашивается приоритет предварительной заявке США с серийным номером № 62/385057, поданной 8 сентября 2016 года, которая включена в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме.

### **Уровень техники, к которой относится изобретение**

Во всем мире сельское хозяйство, лесоводство, животноводство, аквакультура и другие способы получения продуктов питания, пищевых добавок, вкусовых добавок, отдушек, волокна и натуральных строительных материалов становятся все более трудными вследствие проблем окружающей среды, включая резистентность вредителей к общепринятым химическим реагентам, экстремальные температуры, засуху, наводнения, новые патогены растений и вредные насекомые, распространение трансграничных вредителей, предпочтение потребителем продуктов питания с низким остаточным содержанием химических реагентов и без ГМО, и множественные нормативные акты, которые ограничивают широкое применение общепринятых химических ресурсов, таких как гербициды, пестициды и удобрения для ограничения серьезного влияния этих химических материалов на окружающую среду. Серьезность и непредсказуемость этих факторов делает фермы, леса, пастбища и другие области производства очень уязвимыми и вызывают потребность в большей функциональной стойкости и приспособляемости. Лучшее управление ресурсами и способность увеличить выход с меньшим задействованием ресурсов также может обеспечить более крепкую основу для ферм, лесов и пастбищ.

Учитывая ограниченную доступность подходящих пахотных площадей, земель, пригодных для лесов, чувствительность к воздействию окружающей среды земель, соседних с этими областями, опасения сообществ, в которых существуют пахотные площади, процессы животноводства и леса, преобладание неорошаемой сельскохозяйственной продукции и дополнительные изъятия из рек, озер и водоносных пластов для обеспечения будущих потребностей в ирригации, увеличение нехватки природных питательных веществ, таких как фосфат, микроэлементы и т.д., фокус всеобщего внимания прямо сосредоточен на ответственном увеличении урожая сельского хозяйства, лесоводства и продуктов животноводства, продуктивном использовании воды при определении по выходу на единицу площади земли, и на количество мегалитров воды, и на доллар инвестированного капитала - все из которых являются фундаментальными для достижения безопасности пищи, волокна и структурных материалов на протяжении последующих десятилетий.

Для способствования урожайности и защиты культур от патогенов, вредителей и заболеваний, фермеры в значительной степени полагались на применение синтетических химических реагентов и химических удобрений; однако при злоупотреблении или ненадлежащем применении эти вещества могут попадать в поверхностную воду, проникать в подземные воды и испаряться в воздух. В качестве источников загрязнения воды и воздуха, эти вещества все в большей степени изучаются, делая их ответственное применение экологическим и коммерческим требованием. Даже при надлежащем использовании чрезмерная зависимость от определенных химических удобрений и пестицидов и их длительное применение повреждает экосистемы почвы, снижает устойчивость к воздействию стрессовых факторов и препятствует росту и жизнеспособности растений и животных.

Поскольку синтетические контактные нематоциды и почвенные фумиганты подвергаются все большему изучению, и поскольку новые нематоциды, гербициды, регуляторы роста растений, инсектициды, бактерициды и фунгициды и другие вносимые в культуры химические системы сокращаются вследствие возрастающих нормативных ограничений, экологичные биологические пестициды, стимулирующие рост микробы, микробы, которые повышают содержание питательных веществ в почве и помогают эффективно использовать воду, становятся более важными альтернативами, в частности, те из них, которые обеспечивают сходные уровни эффективности, что и общепринятые пестициды, фумиганты, регуляторы роста растений, поверхностно-активные вещества и удобрения. Экономические и внешние условия создают возможность для биологической обработки сорняков, насекомых и заболеваний, вызываемых паразитическими нематодами растений, насекомыми, клещами, бактериями и грибами. В результате, существует значительная потребность в более экологически безопасных решениях, которые делают стоящими инвестиции в исследование и разработку новых пестицидов биологического происхождения.

Только на соевую кистообразующую нематоду ежегодно тратится 1,5 миллиарда долларов в год. Использование контактных нематоцидов, помещаемых в семенную борозду при посеве, является основным способом применения. Вследствие токсичности для животных поблизости, таких как птицы, наземное круговое орошение жидкими формами токсичных соединений, таких как немакур, темик, фурадан, дазинат и мокап, становятся неперепредпочтительными.

С 1960-х годов, метилбромид используется растениеводами для эффективной стерилизации полей перед посевом в основном для контроля нематод, а также для лечения заболеваний и устранения сорняков; однако, поскольку это токсичное соединение используется в газообразной форме, больше половины количества, впрыскиваемого в почву, может в конечном итоге оказаться в атмосфере. Поднимаясь в атмосферу, оно участвует в истончении озонового слоя. В 2005 году в развитых странах был запрещен в соответствии с Монреальским протоколом, который является международным договором, подписанным в 1987 году, для защиты озонового слоя стратосферы.

В соответствии с запретом, договор позволяет ограниченное применение метилбромида для клубники, миндаля и других культур, для которых отсутствуют альтернативы как эффективного, так и доступного контроля нематод, заболеваний и сорняков. Степень разрешенного применения уменьшается каждый год и, вероятно, оно скоро прекратится. Таким образом, поиск альтернатив метилбромиду является приоритетом для USDA, которое выделило грант на 5 миллионов долларов в поддержку исследования для идентификации альтернатив, с 2010 года. Однако ни один из продуктов не обеспечивает широкого спектра контроля, который обеспечивается метилбромидом.

Появление регулятивных мандатов, контролирующей доступность и применение химических реагентов, и потребностей потребителей в свободных от остатков химических веществ экологично выращиваемых продуктах, продукция которых оказывает минимальное воздействие на окружающую среду, в которой этот продукт и волокно выращивают, повлияло на промышленность и привело к изменению мышления в отношении того, как решать множество проблем. Очевидно, немедленное прекращение использования химических реагентов не является практически осуществимым. Фермеры, сталкивающиеся с неизбежным переходом на альтернативные продукты, ищут приемлемые альтернативы с различной степенью успеха. В то время как всецелое устранение химических реагентов не осуществимо в настоящий момент, фермеры все в большей степени используют биологические меры в качестве приемлемых компонентов программ Integrated Nutrient Management и Integrated Pest Management.

Подкормка, рост и надлежащее функционирование растений зависят от количества и распределения здоровых популяций естественной микрофлоры, на которые в свою очередь влияет плодородие почвы, рыхление, влажность, температура, аэрация, органические материалы и многие другие факторы. Длительная засуха, переменные дожди и другие изменения окружающей среды, включая распространение нематод и других вредителей, и сорняков, действуют на эти факторы и влияют на разнообразие микрофлоры почвы и здоровье растений.

Также химические остатки от удобрений, вносимых на листву или почву, ненадлежащим образом переработанные отходы животноводства, используемые в качестве удобрений, пестициды, фунгициды, гербициды, поверхностно-активные вещества и другие синтетические продукты могут изменять профили микроорганизмов и уменьшить рост и жизнеспособность растений, которые в свою очередь влияют на животных, которые употребляют эти растения или продукты, продуцированные из этих растений.

Применение биопестицидов и других биологических средств в значительной степени ограничивается трудностью продуцирования, транспортировки, применения, стоимостью и эффективностью. Например, многие микроорганизмы трудно выращивать, а затем использовать для промышленных систем сельского хозяйства и лесоводства в достаточных количествах, чтобы они были полезными. Эту проблему усугубляет снижение жизнеспособности и/или активности вследствие переработки, составления, хранения, стабилизации перед распространением, споруляции вегетативных клеток в качестве средства стабилизации, транспортировки и применения. Более того, после применения биологические продукты могут не быть эффективными по любой из ряда причин, включающих, например, недостаточную первоначальную плотность клеток, неспособность эффективно конкурировать с существующей микрофлорой в конкретной области, и внесение в почву и/или другие условия окружающей среды, в которых микроорганизм не может расти или даже выживать - особенно если он не внесен в окружающую среду в достаточно высоких концентрациях для обеспечения конкурентного роста с теми микроорганизмами, которые уже присутствуют в среде, в которую биологические продукты выделяются, или питание питательными веществами, которые являются компонентами инновационных биологических удобрений.

"Мягкие" пестициды, такие как пестициды, происходящие из бактерий, дрожжей или грибов, или их метаболитов, используются; однако они обычно являются более слабыми и могут быстро уходить через почву, не имея остаточного эффекта для борьбы с вредителями, который является результатом применения стойких живых биологических продуктов, которые продолжают продуцировать активные метаболиты. Действительности, внесение всей среды (всего продукта ферментации) может быть важным для активации и поддержания эффективности биологического продукта.

В настоящее время сельское хозяйство, животноводство и лесоводство ограничиваются поиском способов улучшения микроорганизмов от отдаленных производителей, качество продукта которых страдает вследствие предшествующих задержек при обработке, способов, использованных для стабилизации продукта для последующего распределения, сдерживающих факторов цепочек поставок, ненадлежащего хранения и других факторов, которые препятствуют своевременной доставке и применению жизнеспособных микробных продуктов с высоким количеством клеток.

Таким образом, существует потребность в системах и композициях для эффективного продуцирования и применения микроорганизмов и их побочных продуктов, чтобы фермеры могли глобально с экологической рациональностью выращивать больше продуктов питания и пищевых добавок, лесов для устойчивой продукции большего количества волокон и строительных материалов лучшего использования истощающихся и редких природных ресурсов и способствования эксплуатационной стойкости и прибыли.

Микроорганизмы и их побочные продукты являются пригодными во многих областях, в дополнение к сельскому хозяйству, животноводству и лесоводству. Эти другие применения включают, но не ог-

раничиваются ими, восстановление почвы, воды и других природных источников, горное дело и нефтяной бизнес, корма для животных, переработку и утилизацию отходов, получение и переработку продуктов питания и напитков, и здравоохранение. В каждой из этих областей легко доступный источник микробных клеток, спор или мицелия, а также среды для ферментации этих микроорганизмов, может быть в высокой степени полезным. В настоящее время существует потребность в системах, которые обеспечивают такие продукты на основе микроорганизмов таким образом, чтобы получать специализированные продукты с высокой жизнеспособностью, легко доступные для решения проблем, которые возникают в конкретное время и в конкретном месте.

#### **Краткое описание сущности изобретения**

Настоящее изобретение относится к системам для эффективного продуцирования и применения полезных микроорганизмов, а также для продуцирования и применения веществ, таких как метаболиты, происходящие из этих микроорганизмов, и ферментационной среды, в которой они продуцируются.

Кроме того, настоящее изобретение относится к продуктам на основе микроорганизмов, а также к применению этих продуктов, которые могут быть использованы для достижения благоприятных результатов во многих областях, в том числе, например, для улучшения биовосстановления и разработки месторождений; утилизации и переработки отходов; улучшения здоровья скота и других животных; повышения выхода нефти и газа и очистки оборудования для переработки и транспортировки нефти и газа; и улучшения здоровья и продуктивности растений путем применения одного или нескольких продуктов на основе микроорганизмов.

В контексте сельского хозяйства, в соответствии с настоящим изобретением можно получать и эффективно распространять и применять продукты на основе микроорганизмов, имеющие преимущественные характеристики для конкретной культуры в конкретный момент сезона выращивания и в конкретном регионе.

Системы по настоящему изобретению облегчают получение и применение специализированных продуктов на основе микроорганизмов, которые имеют высокие концентрации вегетативных клеток, репродуктивных спор, грибного мицелия и/или других микробных пропагул, а также среды, в которой эти микробы выращивают. Побочные продукты роста микроорганизмов в этой среде могут быть в высокой степени полезными в широком диапазоне областей сельского хозяйства, лесоводства, выпаса и других областей. Продукты на основе микроорганизмов могут быть приспособлены для предоставления в пределах нескольких суток или менее конкретных целевых решений конкретных проблем в конкретном месте.

Продукты на основе микроорганизмов по настоящему изобретению могут использоваться в различных уникальных ситуациях вследствие, например, способности эффективно предоставлять: 1) свежую ферментационную среду с активными метаболитами; 2) смесь клеток, спор и/или мицелиев и ферментационной среды; 3) композиции с вегетативными клетками, спорами и/или мицелием; 4) композиции с высокой плотностью клеток, в том числе вегетативных клеток, спор и/или мицелия; 5) продукты на основе микроорганизмов в короткие сроки; и 6) продукты на основе микроорганизмов в отдаленные регионы.

Эти продукты на основе микроорганизмов можно использовать в областях, включающих, но не ограничивающихся ими, сельскохозяйственные культуры, скот, лесничество, выращивание газонной травы, пастбища, аквакультуру, горное дело, утилизацию и переработку отходов, восстановление окружающей среды, и здравоохранение.

В конкретных вариантах осуществления системы по настоящему изобретению обеспечивают научные решения, которые повышают продуктивность сельского хозяйства посредством, например, повышения жизнеспособности культуры; повышения выхода культуры; повышения устойчивости к насекомым и заболеваниям; контроля насекомых, нематод, заболеваний и сорняков; улучшения питания растений; улучшения питательности в почвах сельского хозяйства, лесоводства и пастбищ; и обеспечения усовершенствованного и более эффективного использования воды.

В одном варианте осуществления система по настоящему изобретению включает первый аспект, который обеспечивает установку, обладающую способностью продуцировать множество композиций на основе микроорганизмов; второй аспект для распределения продуктов на основе микроорганизмов, продуцированных с помощью установки; и необязательно третий аспект, который способствует применению продуктов на основе микроорганизмов в полевых условиях. Как используют в этом контексте, "полевые условия" включают, но не ограничиваются этим, сельское хозяйство. Таким образом, "полевые условия" могут представлять собой любое место, где будут использоваться продукты на основе микроорганизмов по настоящему изобретению.

Дополнительные аспекты системы могут включать первоначальную идентификацию и разработку микроорганизмов, а также отслеживание количества и перемещения микроорганизмов и/или их метаболитов после применения.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к установке для выращивания микроорганизмов, имеющей множество емкостей для выращивания микроорганизмов, чтобы культивировать микроорганизмов и получать побочные продукты микроорганизмов. Предпочтительно, установка

включает по меньшей мере 2, 25, 50, 75, 110, 250, 500 или более (включая любое число между 2 и 500 или более) емкостей для выращивания, где эти емкости имеют независимое управление и могут быть использованы для культивирования различных микроорганизмов, а затем транспортировки продуктов из этих емкостей для выращивания либо в качестве продукта с одним организмом, либо в качестве смеси двух или более этих продуктов.

Установка для выращивания микроорганизмов по настоящему изобретению производит свежие композиции на основе микроорганизмов, содержащие сами микроорганизмы, метаболиты микроорганизмов и/или другие компоненты среды, в которой микроорганизмы выращивают. Если желательно, композиции могут иметь высокую плотность вегетативных клеток, спор, мицелия, других профаг, или их смеси.

Преимущественно, композиции могут быть адаптированы для применения в конкретной области, например, с определенными культурами, и для решения конкретных задач. В одном варианте осуществления установка для выращивания микроорганизмов находится в или вблизи области, в которой продукты на основе микроорганизмов будут вноситься в растения, в окружающую среду растений, или использоваться другим образом.

Преимущественно, модульная система, используемая в установке для выращивания микроорганизмов, позволяет увеличивать или уменьшать масштаб продукции при низких расходах на установку или демонтаж, что в некоторых вариантах осуществления позволит перемещать установку из одной области в другую. Установка для выращивания микроорганизмов не требует высоко обученных специалистов для производства и один оператор может управлять множеством систем для выращивания микроорганизмов. Поскольку продукты производятся вблизи потребителя, время и повреждение продукта, ассоциированные с техническим оснащением и распределением, снижаются.

Преимущественно, эти установки для выращивания микроорганизмов обеспечивают решение актуальной проблемы зависимости от отдаленных производителей промышленного масштаба, качество продукта которых ухудшается вследствие предшествующих задержек при обработке, сдерживающих факторов цепочек поставок, ненадлежащего хранения и других факторов, которые препятствуют своевременной доставке и применению жизнеспособных микробных продуктов с высоким количеством клеток и ассоциированной с ними среды и метаболитов, в которых клетки первоначально выращивались. В случае сельского хозяйства, эта способность значительно сократить время между производством и внесением позволяет фермерам выращивать больше, иметь более высокую прибыль и усовершенствовать устойчивое управление фермой ввиду воздействий изменения климата, ограниченности природных ресурсов, изменений требований к соблюдению нормативов, предпочтений потребителя и других возникающих проблем рынка.

Преимущественно, в предпочтительных вариантах осуществления системы по настоящему изобретению приспособляют мощь природных локальных микроорганизмов и их побочных продуктов метаболизма для подпитки, усиления и защиты сельскохозяйственных экосистем, и сообществ и окружающей среды, в которых эти экосистемы существуют. Усиление локальных микробных популяций также может быть преимущественным в других областях, включая, но не ограничиваясь ими, восстановление окружающей среды (например, в случае утечки нефти), животноводство, аквакультуру, лесоводство, пастбищное хозяйство, газонную траву, садовую декоративную продукцию, утилизацию и переработку отходов, горное дело, добычу нефти, и здравоохранение, в том числе в отдаленных регионах.

В одном варианте осуществления система включает аспект, обеспечивающий хранение (как правило, кратковременное) и/или распределение продуктов на основе микроорганизмов. Этот аспект системы может включать, например, центр распределения. В одном варианте осуществления композиции на основе микроорганизмов и/или продукты хранятся в установке для выращивания микроорганизмов. В определенных вариантах осуществления центр распределения может включать инвентарный центр, используемый для хранения продуктов на основе микроорганизмов перед транспортировкой к месту применения.

В одном варианте осуществления центр распределения может дополнительно включать департамент механической и/или технической поддержки, который обеспечивает механическую и техническую поддержку потребителей, которые, например, используют продукты на основе микроорганизмов. Центр может обеспечить поддержку в виде диагностики на месте, анализа и устранения проблем, касающихся продуктов на основе микроорганизмов и/или их применения.

В одном варианте осуществления система по настоящему изобретению включает дополнительный аспект предоставления применения в полевых условиях продуктов на основе микроорганизмов. В случае сельского хозяйства, композиции на основе микроорганизмов по настоящему изобретению можно применять, например, через ирригационную систему, в качестве спрея, в качестве обработки семян, на поверхности почвы, на поверхности растений и/или на поверхности с вредителями. Также может быть использовано механическое внесение с использованием общепринятых инструментов или робототехнических средств с помощью или воздушных или наземных "дронов".

Преимущественно, системы по настоящему изобретению обеспечивают потребителям, с использованием новых технологий, вовлекающих экономичные подходы, свежие, эффективные композиции на

основе микроорганизмов с высоким количеством клеток, которые могут включать метаболиты и/или другие побочные продукты, продуцируемые в процессе культивирования. Более того, эти продукты на основе микроорганизмов могут быть специально приспособлены и продуцированы в короткие сроки, удовлетворяя неотложные потребности конкретной фермы или другого потребителя.

Таким образом, распределенные системы по настоящему изобретению облегчают специализированную продукцию микроорганизмов, смесей микроорганизмов, ферментационных сред и их смесей, для удовлетворения потребностей потребителей в конкретном географическом регионе с конкретными потребностями в повышении выхода, эффективности, и другими целями.

#### **Краткое описание чертежей**

Фигура - Блок-схема системы для эффективного продуцирования и применения микроорганизмов и побочных продуктов роста микроорганизмов.

#### **Подробное описание**

Настоящее изобретение относится к системам для эффективного продуцирования и применения полезных микроорганизмов, а также для продуцирования и применения веществ, таких как метаболиты, продуцируемые этими микроорганизмами.

В предпочтительном варианте осуществления настоящее изобретение относится к композициям на основе микроорганизмов, а также к способам применения композиций для обеспечения здоровья растений, микробного разнообразия почвы, питания растений, питательной способности почвы, оптимизации влажности почвы, аэрации почвы, способности почвы удерживать воду и уменьшения чувствительности растений к вредителям, заболеваниям и сорнякам. Этого достигают путем улучшения естественной защиты растения, содержания питательных веществ, микробного здоровья почвы, а также прямого воздействия на вредителей, заболевания и сорняки растений. Этот улучшающий эффект для растений возникает в результате внесения одного или нескольких продуктов на основе микроорганизмов по настоящему изобретению на растение и/или в его окружающую среду.

Таким образом, в определенных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к композициям и способам для улучшения защиты растения от внешних атак с использованием одного или нескольких микроорганизмов и/или композиций на основе микроорганизмов. Природа внешних атак может быть биотической и абиотической. Неограничивающие примеры биотических атак включают вредителей растений, травоядных животных, насекомых, насекомых, служащих в качестве векторов заболеваний растений, бактерий, грибов, вирусов и инвазивных растений, таких как сорняки. Абиотические атаки могут быть вызваны, например, изменениями окружающей среды растения. В некоторых вариантах осуществления внешние атаки являются абиотическими в результате чрезвычайных физических условий, которые включают, но не ограничиваются ими, изменения температуры, воздействия света, содержания соли, питательности, качества воды, доступности воды, аэрации, качества почвы и других факторов, влияющих на рост данного растения.

В одном варианте осуществления система по изобретению включает эффективную цепь продуцирования, распределения и использования продуктов на основе микроорганизмов. Продукты могут содержать сами микроорганизмы, а также побочные продукты их роста. В предпочтительных вариантах осуществления система включает установки и оборудование, которые обеспечивают продуцирование, распределение и применение продуктов на основе микроорганизмов. Эти установки могут включать, но не ограничиваться ими, установки для продуцирования, хранения и распределения.

Как используют в рамках изобретения, "композиция на основе микроорганизмов" означает композицию, которая содержит компоненты, продуцированные в результате роста микроорганизмов или других клеточных культур. Таким образом, композиция на основе микроорганизмов может содержать сами микроорганизмы и/или побочные продукты роста микроорганизмов. Микробы могут находиться в вегетативном состоянии, в форме спор, в форме мицелия, в форме любой другой пропaгулы, или в форме их смеси. Микроорганизмы могут быть в форме планктона или биопленки. Побочные продукты роста могут представлять собой, например, метаболиты, компоненты клеточной мембраны, экспрессируемые белки и/или другие клеточные компоненты. Микроорганизмы также могут быть интактными или лизированными. В предпочтительных вариантах осуществления микроорганизмы в композиции на основе микроорганизмов присутствуют со средой, в которой они были выращены. Клетки могут присутствовать в концентрации, например,  $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^8$ ,  $1 \times 10^9$ ,  $1 \times 10^{10}$  или  $1 \times 10^{11}$  или более пропaгул на миллилитр композиции. Как используют в рамках изобретения, пропaгула представляет собой любую часть микроорганизма, из которой может развиваться новый и/или зрелый организм, включая, но не ограничиваясь ими, клетки, споры, мицелий, почки и семена.

Кроме того, настоящее изобретение относится к "продуктам на основе микроорганизмов", которые представляют собой продукты, которые предназначены для применения на практике для достижения желаемого результата. Продукт на основе микроорганизмов может просто представлять собой композицию на основе микроорганизмов, собранную посредством процесса культивирования микроорганизмов.

Альтернативно, продукт на основе микроорганизмов может содержать дополнительные добавленные ингредиенты. Эти дополнительные ингредиенты могут включать, например, стабилизаторы, буферы, подходящие носители, такие как вода, солевые растворы или любой другой подходящий носитель, до-

бавленные питательные вещества для поддержания дальнейшего роста микроорганизмов, непищевые усилители роста, такие как гормоны растений и/или средства, которые позволяют отследить микроорганизмы и/или композицию в среде, в которую их вносят. Продукт на основе микроорганизмов также может содержать смеси композиций на основе микроорганизмов. Продукт на основе микроорганизмов также может содержать один или несколько компонентов композиции на основе микроорганизмов, которые были переработаны каким-либо образом, таким как, но не ограничиваясь этим, фильтрация, центрифугирование, лизис, сушка, очистка и т.п.

В соответствии с настоящим изобретением, можно продуцировать и эффективно распределять продукты на основе микроорганизмов, имеющие преимущественные характеристики, например, для конкретной культуры в конкретный момент сезона выращивания и в конкретном регионе. Таким образом, в одном варианте осуществления системы по настоящему изобретению обеспечивают научные решения, которые повышают продуктивность сельского хозяйства, например, посредством повышения жизнеспособности культуры, усиления резистентности к насекомым и заболеваниям, и обеспечения улучшенных ответов на стресс, связанный с водой, солью, аэрацией, или на дефицит питательных веществ.

Распределенные системы для получения и применения продуктов на основе микроорганизмов

Настоящее изобретение относится к системе для получения микроорганизмов и/или продуктов на основе микроорганизмов для применения в определенных условиях и/или среде, где система включает:

(i) установку для выращивания микроорганизмов, содержащую множество модульных емкостей для выращивания, в которых могут расти одни и те же или различные микроорганизмы в одних и тех же или в различных условиях выращивания для получения композиции на основе микроорганизмов в каждой емкости для выращивания, где среда для роста, насыщение кислородом, pH, встряхивание и/или температура могут независимо и/или совместно контролироваться для каждой из указанных емкостей; и где композицию на основе микроорганизмов собирают, тем самым получения продукт на основе микроорганизмов, который необязательно может иметь добавленные дополнительные компоненты для получения продукта на основе микроорганизмов, который затем может быть предоставлен потребителю; и

(ii) транспортирующий компонент для транспортировки указанного продукта(ов) на основе микроорганизмов, продуцированного в установке для выращивания микроорганизмов, где указанный компонент для транспортировки содержит контейнеры и/или каналы для транспортировки продукта(ов) на основе микроорганизмов из установки для выращивания микроорганизмов в центр распределения или в область, где продукт на основе микроорганизмов будет использоваться.

Как используют в рамках изобретения, "собранный" относится к извлечению части или всей композиции на основе микроорганизмов из емкости для выращивания. На фигуре представлена блок-схема компонентов согласно одному варианту осуществления настоящего изобретения. Хотя компоненты показаны последовательно для простоты пояснения, отсутствует ограничение последовательности, отличное от того, что указано в прилагаемой формуле изобретения. Кроме того, некоторые компоненты могут быть необязательными.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к системам для идентификации и разработки полезных для сельского хозяйства штаммов микроорганизмов; выращивания таких микроорганизмов для продуцирования, локально и в требуемом масштабе, композиций на основе микроорганизмов, имеющих желаемые характеристики при внесении на растения или в их окружающую среду; что делает продукты на основе микроорганизмов легко и эффективно доступными для потребителей; и при использовании таких продуктов для обеспечения здоровья растений, урожая, жизнеспособности и привлекательности для рынка.

В одном варианте осуществления система для эффективного продуцирования и применения микроорганизмов включает: 1) идентификацию и/или разработку представляющих интерес микроорганизмов; 2) получение ферментируемого и генетически стабильного штамма микроорганизмов; 3) выращивание конкретного штамма микроорганизмов либо в чистой форме, либо с другими микроорганизмами; 4) распределение микроорганизмов и/или их побочных продуктов их роста потребителю; 5) внесение микроорганизмов в подлежащую использованию область.

Система по настоящему изобретению может включать аспект, ответственный за разработку продукта, включая, например, разработку, идентификацию и/или охарактеризацию микроорганизмов и/или метаболитов микроорганизмов. Разработка продукта может осуществляться в местной научной лаборатории или в сотрудничестве с другим исследовательским центром.

Микроорганизмы можно идентифицировать, разрабатывать, необязательно модифицировать и тестировать в отношении их различных свойств (например, свойств контроля вредителей, способности продуцировать представляющий интерес метаболит, способности расти в конкретной окружающей среде, потребности в питательных веществах и т.д.). Система по настоящему изобретению также может включать инновационный центр, оборудованный и укомплектованный персоналом для того, чтобы удовлетворить отдельные и разнообразные потребности потребителей в конкретных областях.

Потребители могут представлять собой, например, фермеров, лесников, пастухов, декораторов, специалистов по газонным травам, операторов горного дела и/или бурения, местных специалистов природоохранных служб, специалистов парков и других специалистов природных объектов, операторов пе-

переработки отходов, операторов загонов для скота и других животноводческих или сельскохозяйственных операторов, и центры биовосстановления.

Установки для выращивания микроорганизмов

В предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения установка для выращивания микроорганизмов продуцирует свежие микроорганизмы с высокой плотностью и/или представляющие интерес побочные продукты микробного роста в требуемом масштабе. Установка 6 для выращивания микроорганизмов может находиться в или вблизи области применения. Установка продуцирует композиции на основе микроорганизмов с высокой плотностью посредством периодического, псевдонепрерывного или непрерывного культивирования.

Распределенные установки для выращивания микроорганизмов по настоящему изобретению могут быть расположены в месте, где будет использоваться продукта на основе микроорганизмов (например, ферма, лес, пастбище, загон для кормления, шахта, место переработки отходов, парк, центр восстановления или установка аквакультуры), или вблизи области применения. Например, установка для выращивания микроорганизмов может находиться на расстоянии менее 300, 250, 200, 150, 100, 75, 50, 25, 15, 10, 5, 3 или 1 мили (483, 402, 322, 241, 161, 121, 80, 40, 24, 16, 8, 5 или 1,6) км от области применения.

Поскольку продукт на основе микроорганизмов получают локально без необходимости в процессах стабилизации, сохранения, хранения и транспортировки микроорганизмов, свойственных для общепринятого продуцирования микроорганизмов, может быть достигнута значительно более высокая плотность живых микроорганизмов в вегетативном состоянии, в виде спор и/или мицелия, тем самым, требуя меньшего объема продукта на основе микроорганизмов для применения во внесении на месте или позволяя применение микроорганизмов со значительно большей плотностью, когда необходимо достигнуть желаемого результата. Это позволяет уменьшать масштаб биореактора (например, меньшая емкость для ферментации, меньшее предоставление исходного материала, питательных веществ, средств контроля pH и пеногасителей), что делает систему эффективной. Локальное получение продукта на основе микроорганизмов также облегчает включение в продукт среды для выращивания. Среда для выращивания может содержать вещества, продуцированные в ходе ферментации, которые особенно пригодны для локального применения.

Локально продуцированные стойкие культуры с высокой плотностью микроорганизмов являются более эффективными в полевых условиях, чем культуры, которые подвергались стабилизации вегетативных клеток, которые претерпели споруляцию или находились в цепочке поставок в течение некоторого времени. Продукты на основе микроорганизмов по настоящему изобретению являются особенно преимущественными по сравнению с традиционными продуктами, в которых клетки, споры или мицелий отделены от метаболитов и питательных веществ, находившихся в ферментационной среде для выращивания. Уменьшенное время транспортировки позволяет продуцирование и доставку свежих партий микроорганизмов и/или их метаболитов в момент времени и в объеме в соответствии с локальными потребностями.

В предпочтительных вариантах осуществления установка 6 включает системы продуцирования, которые являются модульными по своей конструкции и экономически эффективно позволяют быстрое и неограниченное масштабирование. Более того, установки для выращивания микроорганизмов поддерживают продукцию множества штаммов микробов для удовлетворения разнообразных и изменяющихся потребностей потребителей, которые географически находятся близко к установке для продуцирования.

В одной установке для выращивания микроорганизмов (например, строении) может находиться, например, 2, 5, 10, 20, 50, 75 или 100 или более емкостей для выращивания микроорганизмов. Емкости могут иметь различные объемы, и в них могут использоваться различные среды для роста и условия и принципы выращивания. При необходимости емкости для выращивания можно добавлять или удалять. Их можно перемещать в новую область. Предпочтительно, каждая емкость для выращивания имеет свое собственное управление и системы измерения по меньшей мере температуры и pH. В дополнение к мониторингу и контролю температуры и pH, каждая емкость необязательно может обладать способностью мониторинга и контроля, например, растворенного кислорода, встряхивания, пенообразования, чистоты культур микроорганизмов, продуцирования желаемых метаболитов и т.п.

В одном варианте осуществления в емкости выращивают один тип микроорганизмов. В альтернативных вариантах осуществления в одной емкости можно выращивать несколько типов микроорганизмов, которые могут расти вместе без неблагоприятных эффектов на рост или конечный продукт. В одной емкости одновременно может выращиваться, например, 2-3 или более различных микроорганизмов.

Емкость для выращивания может иметь объем, например, от 5 литров до 2000 литров или более. Как правило, емкости имеют объем от 10 до 1500 литров, и предпочтительно от 100 до 1000 литров, и более предпочтительно от 250 до 750 литров, или от 400 до 600 литров. В этих емкостях для выращивания можно использовать различные системы для роста.

Эти емкости могут быть изготовлены, например, из стекла, полимеров, металлов, сплавов металлов и их комбинаций. Перед выращиванием микробов емкость можно дезинфицировать или стерилизовать.

Преимущество, применение нескольких независимых емкостей для выращивания имеет преимущество, состоящее в ограниченном повреждении и экономических потерях, если одна из емкостей



имеет механическую проблему и/или одна из партий испортится.

Время культивирования в отдельных емкостях может составлять, например, от 1 до 7 суток или более. Продукт культивирования может быть собран любым из ряда различных способов.

Поскольку продукт на основе микроорганизмов получают в месте или вблизи места применения без необходимости в процессах стабилизации, сохранения, длительного хранения и длительной транспортировки, свойственных общепринятому продуцированию, может быть достигнута значительно более высокая плотность живых микроорганизмов, тем самым требуя значительно меньшего объема продукта на основе микроорганизма для применения на месте. Это позволяет использовать биореактор меньшего масштаба (например, емкость для ферментации меньшего размера, меньшие поставки исходных материалов, питательных веществ, средств контроля pH и пеногасителей и т.д.), обеспечивает отсутствие причины для стабилизации клеток или отделения их от культуральной среды, и способствует компактности продукта.

Установка для выращивания микроорганизмов обеспечивает универсальность производства посредством возможности приспособления продуктов на основе микроорганизмов для улучшения взаимодействия с конечными географическими областями, независимо от топографии, типа культуры или животных, профиля почв, климата, вредителей и т.д. Например, время ферментации, как правило, находится в диапазоне от одних до шести суток, способствуя быстрому ответу на "сезонные" проблемы, которые угрожают культурам.

Продуцирование множества штаммов микроорганизмов на установках для выращивания микроорганизмов по настоящему изобретению способствует предоставлению широкого ассортимента продуктов для потребителей. Система способна обеспечивать специализированные микроорганизмы для потребностей и текущих условий данной области и работы.

Локальная продукция и доставка в пределах, например, 24 часов после ферментации приводит к чистым композициям с высокой плотностью клеток и значительно более низкой стоимости транспортировки. Учитывая перспективы быстрого продвижения в разработке более эффективных и мощных инокулятов микроорганизмов, эта способность быстро доставлять инновации, способные увеличить выход и повысить эффективность микроорганизмов, является в значительной степени полезной для потребителей. В случае сельского хозяйства, это может приводить к повышению качества, например, высокотоварных культур, газонных трав и декоративных растений.

Способы продуцирования микроорганизмов

Настоящее изобретение относится к способам культивирования микроорганизмов и продуцирования метаболитов микроорганизмов и/или других побочных продуктов роста микроорганизмов. Кроме того, настоящее изобретение относится к процессам культивирования, которые пригодны для культивирования микроорганизмов и продуцирования метаболитов микроорганизмов в требуемом масштабе. Эти процессы культивирования включают, но не ограничиваются ими, глубинное культивирование/ферментацию, поверхностное культивирование, твердофазную ферментацию (SSF) и/или их комбинации, и они могут осуществляться в качестве аэробных или анаэробных процессов.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к материалам и способам для получения биомассы (например, жизнеспособного клеточного материала), внеклеточных метаболитов (например, низкомолекулярные соединения и экскретируемые белки), остаточных питательных веществ и/или внутриклеточных компонентов (например, ферментов и других белков).

В системах культивирования микроорганизмов, как правило, используется ферментация посредством глубинного культивирования; однако также можно использовать поверхностное культивирование и гибридные системы. Как используют в рамках изобретения, "ферментация" относится к выращиванию клеток в контролируемых условиях. Рост может быть аэробным или анаэробным.

Емкость для выращивания микроорганизмов, используемая в соответствии с настоящим изобретением, может представлять собой любой ферментер или реактор для культивирования для промышленного применения. Процесс культивирования проводят в емкости, которая может быть, например, конической или трубкообразной. В одном варианте осуществления емкость необязательно может иметь функциональные элементы контроля/сенсоры или необязательно может быть соединена с функциональными элементами контроля/сенсорами для количественного определения важных факторов в процессе культивирования, таких как pH, кислород, давление, температура, мощности вала мешалки, влажности, вязкости и/или плотности микроорганизмов и/или концентрации метаболитов. В некоторых вариантах осуществления, культивирование может протекать без стабилизации или мониторинга условий ферментации.

В следующем варианте осуществления емкость также может быть способна осуществлять мониторинг роста микроорганизмов внутри емкости (например, определение количества клеток и фаз роста). Альтернативно из емкости может ежедневно отбираться образец и подвергаться оценке способами, известными в данной области, таким как посев способом разведения. Посев способом разведения является простым способом, используемым для оценки количества бактерий в образце. Также способ может обеспечивать индекс, посредством которого можно сравнивать различные окружающие условия или способы обработки.

В одном варианте осуществления способ включает дополнение культивирования источником азота.

Источник азота может представлять собой, например, нитрат калия, нитрат аммония, сульфат аммония, фосфат аммония, аммиак, мочевины и/или хлорид аммония. Эти источники азота могут использоваться независимо или в комбинации из двух или более.

Способ может обеспечить оксигенацию культуры для выращивания. В одном варианте осуществления используется медленное движение воздуха для удаления воздуха с низким содержанием кислорода и подачи оксигенированного воздуха. Оксигенированный воздух может представлять собой воздух окружающей среды, предоставляемый ежедневно с помощью механизмов, включающих мешалки для механического встряхивания жидкости и распределители воздуха для подачи пузырьков газа в жидкость для растворения в жидкости кислорода.

Кроме того, способ может включать дополнение культивирования источником углерода. Источник углерода, как правило, представляет собой углевод, такой как глюкоза, сахароза, лактоза, фруктоза, трегалоза, манноза, маннит и/или мальтоза; органические кислоты, такие как уксусная кислота, фумаровая кислота, лимонная кислота, пропионовая кислота, яблочная кислота, малоновая кислота, и/или пировиноградная кислота; спирты, такие как этанол, пропанол, бутанол, пентанол, гексанол, изобутанол и/или глицерин; жиры и масла, такие как соевое масло, масло из рисовых отрубей, оливковое масло, кукурузное масло, кунжутное масло и/или льняное масло; и т.д. Эти источники углерода можно использовать независимо или в комбинации из двух или более.

В одном варианте осуществления в среду включают факторы роста и микроэлементы для микроорганизмов. Это является особенно предпочтительным при выращивании микроорганизмов, которые неспособны продуцировать все витамины, которые им необходимы. Также в среду могут быть включены неорганические питательные вещества, включая микроэлементы, такие как железо, цинк, медь, марганец, молибден и/или кобальт.

В одном варианте осуществления также могут быть включены неорганические соли. Пригодные неорганические соли могут представлять собой дигидрофосфат калия, гидрофосфат калия, гидрофосфат натрия, сульфат магния, хлорид магния, сульфат железа, хлорид железа, сульфат марганца, хлорид марганца, сульфат цинка, хлорид свинца, сульфат меди, хлорид кальция, карбонат кальция и/или карбонат натрия. Эти неорганические можно использовать независимо или в комбинации из двух или более.

В некоторых вариантах осуществления способ культивирования может дополнительно включать добавление дополнительных кислот и/или противомикробных средств в жидкую среду до и/или в ходе процесса культивирования. Противомикробные средства или антибиотики используются для защиты культуры от заражения. Кроме того, также можно добавлять пеногасители для предупреждения образования и/или накопления пены при образовании газа в ходе культивирования.

Значение pH смеси должно быть пригодным для представляющего интерес микроорганизма. Для стабилизации pH приблизительно на уровне предпочтительной величины можно использовать буферы и регуляторы pH, такие как карбонаты и фосфаты. Когда ионы металлов присутствуют в высоких концентрациях, может быть необходимым использование хелатирующего агента в жидкой среде.

Способ и оборудование для культивирования микроорганизмов и продуцирования побочных продуктов микроорганизмов могут соответствовать периодическим, псевдонепрерывным или непрерывным процессам.

Микроорганизмы можно выращивать в планктонной форме или в качестве биопленки. В случае биопленки емкость может содержать субстрат, на котором микроорганизмы могут расти в форме биопленки. Система также может иметь, например, способность применять стимулы (такие как напряжение сдвига), которые улучшают и/или повышают характеристики роста биопленки.

В одном варианте осуществления способ культивирования микроорганизмов проводят при температуре от приблизительно 5° до приблизительно 100°C, предпочтительно от 15 до 60°C, более предпочтительно от 25 до 50°C. В следующем варианте осуществления культивирование можно проводить непрерывно при постоянной температуре. В другом варианте осуществления в ходе культивирования температуры могут меняться.

В одном варианте осуществления оборудование, используемое в способе и процессе культивирования, является стерильным. Оборудование для культивирования, такое как реактор/емкость, может находиться отдельно от, но соединено со стерилизующей системой, например, автоклавом. Оборудование для культивирования также может иметь стерилизующую систему, которая осуществляет стерилизацию *in situ* до начала инокуляции. Воздух можно стерилизовать способами, известными в данной области. Например, воздух окружающей среды может проходить по меньшей мере через один фильтр перед подачей в емкость. В других вариантах осуществления среда может быть пастеризована или, необязательно, нагревание не осуществляется вовсе, где для контроля роста бактерий может использоваться низкая активность в воде и низкое значение pH.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу получения метаболитов микроорганизмов, таких как белки, пептиды, метаболические промежуточные соединения, полиненасыщенные жирные кислоты и липиды. Содержание метаболитов, продуцированных таким способом, может составлять, например, по меньшей мере, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или 90%.

Содержание биомассы в среде для ферментации может составлять, например, от 5 г/л до 180 г/л или более. В одном варианте осуществления содержание твердых веществ в среде составляет от 10 г/л до 150 г/л.

В одном варианте осуществления способ получения метаболита микроорганизма по настоящему изобретению включает стадии: 1) смешения гидрофобных и гидрофильных частиц с получением образующего матрикс твердого вещества; 2) приведение указанного образующего матрикс твердого вещества в контакт со средой, которая инокулирована представляющим интерес микроорганизмом, тем самым получая матрикс с микрореакторами; 3) выращивание указанного микроорганизма в указанных микрореакторах; и 4) сбор указанного метаболита, продуцированного указанным микроорганизмом.

Побочный продукт роста микроорганизмов, продуцируемый представляющими интерес микроорганизмами, может удерживаться в микроорганизмах или секретироваться в жидкую среду. В другом варианте осуществления способ продуцирования побочного продукта выращивания микроорганизмов, кроме того, может включать стадии концентрирования и очистки представляющего интерес побочного продукта роста микроорганизмов. В следующем варианте осуществления жидкая среда может содержать соединения, которые стабилизируют активность побочного продукта роста микроорганизмов.

В одном варианте осуществления после завершения культивирования извлекают всю композицию для культивирования микроорганизмов (например, при достижении требуемой плотности клеток или плотности конкретного метаболита в среде). В этой периодической процедуре после сбора первой партии начинают культивировать полностью новую партию.

В другом варианте осуществления только часть продукта ферментации извлекают в какой-либо момент времени. В этом варианте осуществления биомасса с жизнеспособными клетками остается в емкости в качестве инокулята для культивирования новой партии. Композиция, которую извлекают, может представлять собой бесклеточную среду или может содержать клетки. Таким образом, создают псевдо-непрерывную систему.

Получение продуктов на основе микроорганизмов

Одним из продуктов на основе микроорганизмов по настоящему изобретению просто является среда для ферментации, содержащая микроорганизм и/или метаболиты микроорганизмов, продуцируемые микроорганизмом и/или любыми остаточными питательными веществами. Продукт ферментации может быть использован непосредственно без экстракции или очистки. Если желательно, экстракцию и очистку можно без труда осуществлять с использованием стандартных способов или технологий экстракции, описанных в литературе.

Микроорганизмы в продукте на основе микроорганизмов могут быть в активной или неактивной форме. Продукты на основе микроорганизмов могут использоваться без дальнейшей стабилизации, консервации и хранения. Преимущественно, немедленное применение этих продуктов на основе микроорганизмов сохраняет высокую жизнеспособность микроорганизмов, снижает возможность контаминации чужеродными агентами и нежелательными микроорганизмами, и поддерживает активность побочных продуктов роста микроорганизмов.

Микроорганизмы и/или среда, полученные в результате выращивания микроорганизмов, могут извлекаться из емкости для выращивания и транспортироваться, например, через трубопровод, для немедленного применения.

В других вариантах осуществления композиция (микроорганизмы, среда или как микроорганизмы, так и среда) могут быть помещены в контейнеры подходящего размера, учитывая, например, предполагаемое применение, предусматриваемый способ применения, размер емкости для ферментации и какой-либо способ транспортировки из установки для выращивания микроорганизмов в область применения. Таким образом, контейнеры, в которые помещена композиция на основе микроорганизмов, могут иметь объем, например, от 1 галлона до 1000 галлонов (от 3,8 л до 3800 л) или более. В других вариантах осуществления контейнеры имеют объем 2 галлона (7,2 л), 5 галлонов (19 л), 25 галлонов (95 л) или более.

При сборе композиции на основе микроорганизмов из емкостей для выращивания могут быть добавлены дополнительные компоненты по мере помещения собранного продукта в контейнеры и/или выведения через трубопровод (или иной транспортировки для применения). Добавки могут представлять собой, например, буферы, носители, другие композиции на основе микроорганизмов, продуцированные на той же или другой установке, модификаторы вязкости, консерванты, питательные вещества для выращивания микроорганизмов, питательные вещества для роста растений, агенты для отслеживания, пестициды, гербициды, корм для животных, продукты питания и другие ингредиенты, специализированные для предполагаемого применения.

Преимущественно, в соответствии с настоящим изобретением продукт на основе микроорганизмов может содержать среду, в которой микроорганизмы выращивают. Продукт может составлять, например, по меньшей мере по массе, 1%, 5%, 10%, 25%, 50%, 75% или 100% среды. Количество биомассы в продукте по массе может представлять собой, например, любое количество от 0% до 100%, включая все проценты между ними.

Необязательно, продукт можно хранить перед применением. Предпочтительно, время хранения является коротким. Таким образом, время хранения может составлять менее 60 суток, 45 суток, 30 суток,

20 суток, 15 суток, 10 суток, 7 суток, 5 суток, 3 суток, 2 суток, 1 суток или 12 часов. В предпочтительном варианте осуществления, если в продукте присутствуют живые клетки, продукт хранят при холодной температуре, такой как, например, менее 20°C, 15°C, 10°C или 5°C. С другой стороны, композицию биологического поверхностно-активного вещества, как правило, можно хранить при температуре окружающей среды.

Продукты на основе микроорганизмов по настоящему изобретению могут представлять собой, например, инокуляты микроорганизмов, биопестициды, источники питательных веществ, средства восстановления, продукты для здоровья, и/или биологические поверхностно-активные вещества.

#### Распределение продуктов на основе микроорганизмов

Система необязательно включает аспект распределения продукта на основе микроорганизмов. В одном варианте осуществления этот аспект включает центр 3 распределения, который необязательно может включать инвентарный центр 4. Инвентарный центр 4 может быть ответственным за хранение и дальнейшее распределение продуктов на основе микроорганизмов. Инвентарный центр может обеспечивать обслуживание потребителя, включая, например, консультирование потребителей в отношении доставляемых и доступных инокулятов микроорганизмов.

В одном варианте осуществления центр 3 распределения может обеспечивать услуги, касающиеся продажи, хранения и транспортировки продуктов на основе микроорганизмов. Центр 3 распределения также может осуществлять механическую и техническую поддержку.

#### Применение продуктов на основе микроорганизмов

В другом аспекте способы и системы по настоящему изобретению могут включать способы, системы и устройства для применения продуктов на основе микроорганизмов.

В случае сельского хозяйства, композиции можно подавать, например, в систему ирригации, их можно распылять из рюкзаков или сходных устройств, применять с помощью наземных или воздушных робототехнических устройств, таких как дрон, и/или наносить на семена. Нанесение на семена может осуществляться, например, посредством покрытия семян или внесения композиции в почву одновременно с посевом семян. Это может осуществляться автоматически, например, путем предоставления устройства или системы ирригации, которая вносит композицию на основе микроорганизмов вместе с и/или рядом с семенами во время или приблизительно во время посева семян. Таким образом, композицию на основе микроорганизмов можно вносить в пределах, например, 5, 4, 3, 2 или 1 суток до или после посева или одновременно с посевом семян.

В некоторых сельскохозяйственных вариантах осуществления композиции, описанные в настоящем описании, в виде либо сухого, либо жидкого состава, вносят путем обработки семян или на поверхность почвы, на поверхность растения и/или на поверхность с вредителями или сорняками.

В определенных вариантах осуществления композиции, описанные в настоящем описании, вносят на поверхность почвы без вовлечения механических средств. Полезный эффект внесения в почву может активироваться дождем, орошением через разбрызгиватель, орошением затоплением или капельным орошением, а затем передаваться, например, вредителям-мишеням для обеспечения снижения уровней их популяции до приемлемых порогов, или корням растений для влияния на микробном корневой или облегчения захвата микробного продукта в сосудистую систему культуры или растения, в которые микробный продукт вносят. В иллюстративном варианте осуществления композиции, описанные в настоящем описании, можно эффективно вносить через систему кругового орошения или посредством распыления в борозду для семян.

Указание в настоящем описании на внесение композиции "на или вблизи" вредителя или растения, или в "окружающую среду" вредителя или растения означает, что введение является таким, что композиция в достаточной степени контактирует с вредителем или растением для достижения требуемого результата (например, уничтожения вредителя, повышения выхода, предупреждения повреждения растения, регуляции генов и/или гормонов и т.д.). Обычно, оно может осуществляться в пределах, например, 10, 5, 3, 2 или 1 фута (3, 1,5, 0,9, 0,6 или 0,3 м) или менее, от вредителя, сорняка или другой желаемой мишени.

Продукт на основе микроорганизмов также можно вносить таким образом, чтобы стимулировать колонизацию корней и/или ризосферы, а также сосудистой системы растения, для обеспечения здоровья и жизнеспособности растений. Таким образом, можно стимулировать фиксирующие питательные вещества микроорганизмы, такие как ризобиум и/или микориза, а также другие эндогенные (уже присутствующие в почве), а также экзогенные микроорганизмы или их побочные продукты, которые осуществляют борьбу с вредителями, сорняками или заболеваниями, или иным образом улучшают рост, здоровье и/или выход. Продукт на основе микроорганизмов также может поддерживать сосудистую систему растений, например, путем вхождения и колонизации указанной сосудистой системы и доставки метаболитов и питательных веществ, важных для здоровья и продуктивности растений, или метаболитов со свойствами контроля вредителей.

Преимущественно, способ не требует сложного оборудования или высокого расхода энергии. Представляющие интерес микроорганизмы можно культивировать в малом или большом масштабе на месте и использовать, даже все еще смешанными с их средой. Аналогично, метаболиты микроорганизмов можно

получать в больших количествах в требуемой области.

Преимущественно, продукты на основе микроорганизмов можно продуцировать в отдаленных регионах. В одном варианте осуществления продукты на основе микроорганизмов можно использовать для питания человека и/или предупреждения и/или лечения заболеваний. Установки для выращивания микроорганизмов могут работать автономно с использованием, например, солнечной, ветряной и/или гидроэлектрической энергии.

Продукты на основе микроорганизмов можно вносить непосредственно в отходы животноводства и/или использовать в предприятии по переработке отходов. Продукты на основе микроорганизмов также можно вносить непосредственно в загрязненную окружающую среду, такую как область разлива нефти или опасных отходов. Продукты на основе микроорганизмов также можно вносить в руду для выделения представляющих интерес металлов, минералов или других веществ. Продукты на основе микроорганизмов также можно инжектировать в нефтяные скважины и/или трубы, емкости и другое оборудование, ассоциированное с нефтяными скважинами и/или переработкой нефти. Таким образом, область применения включает буровое оборудование, оборудование для хранения нефтепродуктов, перекачивающий трубопровод, танкеры и нефтеперегонные установки.

#### Инокуляты микроорганизмов

В одном варианте осуществления продукт на основе микроорганизмов представляет собой инокулят микроорганизмов. При внесении, например, на семена, растение или в почву пропашных культур, при лесоводческих операциях, на управляемые пастбища, культуры садоводства, контролируемые газонные травы, отходы животноводства и/или корма для животных инокулят становится неотъемлемо частью качеств обрабатываемой почвы или обрабатываемой среды и стимулирует здоровый рост природных полезных микроорганизмов, который является полезным для этой почвы, или среды, или растений и животных, которые выращиваются, кормятся или иным образом взаимодействуют с этой почвой и средой. После внесения почву инокуляты микроорганизмов по настоящему изобретению улучшают минерализацию органических веществ, увеличивают фиксацию азота, требуемую для фотосинтеза, повышают доступность фосфора для культур, ограничивая его утечку в окружающую среду, продуцируют полезные сигнальные метаболиты растений, стимулируют рост массы корней, облегчая поглощение воды и ключевых питательных веществ, повышают плодородность почвы и/или повышает количество биомассы.

В одном варианте осуществления инокуляты могут быть индивидуально адаптированы в зависимости от культуры или географии для облегчения стойкой колонизации полезными микроорганизмами, что делает эту технологию идеальной для заблаговременного контроля определенных культур, выращиваемых в совершенно различных почвенных экосистемах. Способность индивидуально адаптировать микроорганизмы для удовлетворения потребностей различных почвенных экосистем становится еще более важной по мере понимания того, как комплексные микробные сообщества реагируют на необычные температуры, длительную засуху, переменные дожди и другие факторы, являющиеся результатом изменения климата и интенсивного ведения сельского хозяйства.

Вследствие высокой плотности вегетативных клеток, спор, мицелиев и/или других пропагул микроорганизмов, в определенных вариантах осуществления настоящего изобретения продукты на основе микроорганизмов по настоящему изобретению являются уникально преимущественными ввиду их способности колонизировать окружающую среду, такую как почва, и взаимодействовать благоприятным образом с существующей микрофлорой. Вследствие исключительно высокого количества клеток, спор и/или мицелиев, продукты на основе микроорганизмов по настоящему изобретению позволяют длительное выживание микроорганизмов в почве (или другой соответствующей среде). Это выживание может далее быть увеличено и продлено, например, путем предоставления микроорганизмам питательных веществ.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения проводят мониторинг выживания и сохранения микроорганизмов путем отслеживания и/или количественного определения микроорганизмов и/или их перемещения в почве или другой среде.

#### Средства биологического контроля

В другом варианте осуществления продукт на основе микроорганизмов представляет собой средство биологического контроля. По сравнению с общепринятыми синтетическими химическими пестицидами, которые могут загрязнять окружающую среду и неблагоприятным образом влиять на не являющиеся мишенью растения и животные, биопестициды являются нетоксичными, безопасными для применения и могут иметь высокую специфичность. Биопестициды, которые наилучшим образом используются в качестве профилактического, а не лечебного, инструмента для контроля сорняков, заболеваний, нематод и насекомых и других вредителей, позволяют фермерам уменьшать их традиционно высокую зависимость от химических пестицидов и гербицидов без влияния на выход культуры. Биопестициды помогают сформировать окружающую среду, в которой вредители неспособны обосноваться и развиваться, что является ключевой пользой, учитывая, что пролиферация сельскохозяйственных вредителей связана с неблагоприятной погодой. Применение биопестицидов также позволяет фермерам уменьшить загрязнение почвы для чередующихся культур, токсичность для не являющихся мишенью растений и животных, токсичность в отношении культуры, развитие резистентности к пестицидам и выход и утечку в чувстви-

тельные с точки зрения внешней среды области, источники воды и т.д. и другие последствия использования химических пестицидов.

Резистентность к химическим пестицидам является одной из основных проблем, поскольку резистентные вредители и насекомые угрожают продуктивности сельского хозяйства и после развития резистентности борьба с ними становится дорогостоящей.

#### Изменения почвы

В одном варианте осуществления продукт на основе микроорганизмов предназначен для изменения почвы для применения для улучшения здоровья, роста и выхода растений и/или культур, например, в сельском хозяйстве, садоводстве, выращивании в теплицах, озеленении территорий и т.п. Настоящее изобретение также используется для улучшения одного или нескольких качеств почвы, тем самым повышая эффективность почвы для сельскохозяйственных, домашних и садоводческих целей.

Как используют в рамках изобретения, "усиление" означает улучшение или увеличение. Например, усиление здоровья растений означает улучшение способности растений расти и развиваться, включая способность растения препятствовать появлению вредителей и/или заболеваний, и способность растения выживать при засухах и/или переувлажнении. Усиленный рост растений означает увеличение размера и/или массы растения, повышение способности растений достигать требуемого размера и/или массы. Усиленный выход означает улучшение конечных продуктов, продуцируемых растениями в культуре, например, путем увеличения количества плодов на растение, увеличения размера плодов и/или улучшения качества плодов (например, вкус, текстура).

Как используют в рамках изобретения, "средство для изменения почвы" или "почвоулучшитель" представляет собой любое соединение, материал или комбинацию соединений или материалов, которые добавляют в почву для улучшения физических свойств почвы. Средство для изменения почвы может включать органическое и неорганическое вещество и, кроме того, может включать, например, удобрения, пестициды и/или гербициды. Богатая питательными веществами почва с хорошим дренированием является необходимой для роста и здоровья растений, и, таким образом, средства для изменения почвы можно использовать для усиления роста и здоровья растений путем изменения содержания питательных веществ и влаги в почве. Изменение почвы также можно использовать для улучшения многих различных качеств почвы, включая, но не ограничиваясь ими, структуру почвы (например, предупреждение уплотнения); повышение концентрации питательных веществ и способности к запасанию; повышение удержания воды в сухих почвах; и повышение дренирования в переувлажненных почвах.

В предпочтительных вариантах осуществления способы по изобретению включают внесение продукта на основе микроорганизмов, т.е. средства для изменения почвы на основе микроорганизмов, в почву, в которой растет или в которую будет посеяно растение или культура. Продукт на основе микроорганизмов может содержать микроорганизм и/или побочный продукт роста микроорганизма. В предпочтительных вариантах осуществления побочный продукт роста представляет собой софоролипидное биологическое поверхностно-активное вещество.

В некоторых сельскохозяйственных вариантах осуществления композиции, описанные в настоящем описании, либо в сухом, либо в жидком составе, вносят в качестве обработки семян или на поверхность почвы, или на поверхность растения (например, на поверхность корней растения).

В определенных вариантах осуществления композиции, описанные в настоящем описании, вносят на поверхность почвы без вовлечения механических средств. Полезный эффект внесения в почву может активироваться дождем, разбрызгивателем, орошением затоплением или капельным орошением, а затем передаваться, например, корням растений для влияния на микробиом корней или облегчения поглощения микробного продукта в сосудистую систему культуры и растения, в которые вносят микробный продукт. В иллюстративном варианте осуществления композиции, описанные в настоящем описании, можно эффективно вносить через систему кругового орошения или распылением в борозду для семян.

Продукт на основе микроорганизмов также можно вносить для стимуляции колонизации корней и/или ризосферы, а также сосудистой системы растения, для улучшения здоровья и жизнеспособности растения. Таким образом, можно стимулировать фиксирующие питательные вещества микроорганизмы, такие как ризобиум и/или микориза, а также другие эндогенные (уже присутствующие в почве), а также экзогенные микроорганизмы или их побочные продукты, которые улучшают рост, здоровье и/или выход культуры. Продукт на основе микроорганизмов также может поддерживать сосудистую систему растений, например, путем вхождения и колонизации указанной сосудистой системы и обеспечения метаболических и питательных веществ, важных для здоровья и продуктивности растений.

Почву можно обрабатывать в любой момент времени в ходе процесса культивации растения. Например, продукт на основе микроорганизмов можно вносить в почву до посева в нее семян или в любой момент времени после этого в ходе развития и роста растения или растений.

В некоторых вариантах осуществления способ включает приведение почвы в контакт с микроорганизмом в комбинации с биологическими поверхностно-активными веществами, которые они продуцируют. Микроорганизмы могут быть либо живыми (или жизнеспособными), либо неактивными в момент внесения. Кроме того, способы могут включать добавление материалов, усиливающих рост микроорганизмов, в ходе внесения (например, добавление питательных веществ для стимуляции роста растений). В

одном варианте осуществления источники питательных веществ могут включать, например, азот, нитрат, фосфор, магний и/или углерод.

В других вариантах осуществления способ включает простое внесение биологических поверхностно-активных веществ в почву без микроорганизмов.

В одном варианте осуществления способ включает внесение продукта на основе микроорганизмов, содержащего дрожжи *Starmerella bombicola* и/или побочные продукты их роста, в почву, где композиция позволяет усиленное всасывание воды и/или питательных веществ из почвы. В одном варианте осуществления микроорганизмы продукта на основе микроорганизмов представляют собой *Wickerhamomyces anomalus*. В другом варианте осуществления продукт на основе микроорганизмов содержит SLP без микроорганизмов. Преимущественно, способы улучшают здоровье, рост и/или урожай растений без использования агрессивных химикатов.

Настоящее изобретение может быть использовано для улучшения любого количества качеств в любом типе почвы, например, в глиняной, песчаной, илестой, торфянистой, известковой, суглинистой и/или их комбинациях. Более того, способы и композиции можно использовать для улучшения качества сухой, переувлажненной, пористой, истощенной, уплотненной почвы и/или их комбинаций.

В одном варианте осуществления способ может использоваться для улучшения дренирования и/или рассредоточения воды в переувлажненных почвах. В одном варианте осуществления способ может использоваться для повышения удержания воды в сухой почве.

В одном варианте осуществления способ может использоваться для повышения удержания питательных веществ в пористых и/или истощенных почвах.

Продукты на основе микроорганизмов можно использовать либо отдельно, либо в комбинации с другими соединениями для эффективного усиления здоровья, роста и/или урожая растений. Например, вместе с продуктом на основе микроорганизмов можно вносить коммерческие и/или природные удобрения, пестициды, гербициды и/или другие средства для изменения почвы. В определенных вариантах осуществления продукты на основе микроорганизмов можно использовать для повышения эффективности других соединений, например, путем обеспечения удержания соединения в почве или обеспечения более однородного распределения соединения в почве.

В других способах применения желаемые признаки почвы могут быть достигнуты путем добавления различных материалов в почву, включая, например, костную муку, люцерну, глютен кукурузы, карбоната калия и/или навоза различных животных, включая лошадей, коров, свиней, кур, летучих мышей, овец. Другие дополнительные элементы, которые могут быть добавлены, включают, но не ограничиваются ими, минеральные питательные вещества, такие как магний, фосфат, азот, калий, селен, кальций, сера, железо, медь и цинк. Точные материалы и их количества могут быть определены специалистом-почвоведом.

#### Биологические поверхностно-активные вещества

В одном варианте осуществления продукт на основе микроорганизмов содержит биологическое поверхностно-активное вещество. Микробные биологические поверхностно-активные вещества представляют собой соединения, продуцируемые различными микроорганизмами, такими как бактерии, грибы и дрожжи. Биологические поверхностно-активные вещества составляют важный класс вторичных метаболитов, которые встречаются во многих микроорганизмах, таких как виды *Starmerella*, виды *Pichia*, виды *Pseudomonas* (*P. aeruginosa*, *P. putida*, *P. fluorescens*, *P. fragi*, *P. syringae*); *Flavobacterium* spp.; *Bacillus* spp. (*B. subtilis*, *B. pumillus*, *B. cereus*, *B. licheniformis*); виды *Candida* (*C. albicans*, *C. rugosa*, *C. tropicalis*, *C. lipolytica*, *C. torulopsis*); *Rhodococcus* sp.; *Arthrobacter* spp.; *campylobacter* spp.; *cornyobacterium* spp. и т.д. Безопасные эффективные микробные биологические поверхностно-активные вещества уменьшают поверхностное и межфазное напряжение между молекулами жидкостей, твердых веществ и газов. Эту динамику можно использовать для способствования здоровью растений, увеличения урожая, контроля аэрации почвы и ответственного использования доступных источников воды для орошения.

Таким образом, в одном варианте осуществления продукт на основе микроорганизмов улучшает здоровье и продуктивность растений, подвергающихся дефициту воды.

Биологические поверхностно-активные вещества являются уникальными в том, что они продуцируются посредством ферментации микроорганизмов, но обладают теми же свойствами, что и химические поверхностно-активные вещества, в дополнение к другим признакам, которыми не обладают их синтетические аналоги. Биологические поверхностно-активные вещества снижают тенденцию воды к "образованию луж", они повышают "сцепление" или "смачиваемость" поверхностей, что приводит к более интенсивному увлажнению всей ризосферы, и они уменьшают объем воды, который в ином случае может "уйти" ниже корневой зоны через микроканалы, образованные системами капельного и микроорошения. Эта "смачиваемость" также обеспечивает лучшее здоровье корневой системы, поскольку становится меньше зон усыхания (или чрезвычайной сухости), ингибирующих надлежащий рост корней и повышается доступность внесенных питательных веществ, поскольку химические питательные вещества и микроэлементы в большей мере становятся доступными и распределяются.

Более однородное распределение воды в ризосфере культуры, которое становится возможным в результате усиленной "смачиваемости" также препятствует накоплению или "улавливание" воды выше оп-

тимальных уровней проникновения, тем самым, смягчая анаэробные условия, которые ингибируют свободный обмен кислорода и углерода. После эффективного внесения биологического поверхностного вещества формируется более пористая или "дышащая" ризосфера и корни становятся более резистентными к некоторым передаваемым через почву заболеваниям. Комбинация надлежащим образом гидратированной и аэрированной ризосферы также повышает чувствительность вредителей почвы и патогенов (таких как нематоды, и передаваемые через почву грибы и их споры) к химическим пестицидам и биопестицидам. Биологические поверхностно-активные вещества можно использовать для широкого диапазона полезных применений, включая контроль заболеваний и вредителей.

Биологические поверхностно-активные вещества, получаемые в соответствии с настоящим изобретением, можно использовать для других, не относящихся к сельскому хозяйству, целей, включая, например, очистку труб, реакторы и других устройств или поверхностей.

Биологические поверхностно-активные вещества по настоящему изобретению включают, например, низкомолекулярные гликолипиды (GL), липопептиды (LP), флаволипиды (FL), фосфолипиды и высокомолекулярные полимеры, такие как липопротеины, комплексы липополисахарид-белок и комплексы полисахарид-белок-жирная кислота.

Биологические поверхностно-активные вещества являются биodeградируемыми и могут быть без труда и недорого получены с использованием отдельных организмов на обновляемых субстратах. Большинство организмов, продуцирующих биологические поверхностно-активные вещества, продуцируют биологические поверхностно-активные вещества в ответ на присутствие источника углеводов (например, масла, сахар, глицерин, и т.д.) в среде для выращивания. Другие компоненты среды, такие как концентрация железа, также могут значительно влиять на продукцию биологических поверхностно-активных веществ.

В одном варианте осуществления микробное биологическое поверхностно-активное вещество представляет собой гликолипид, такой как рамнолипид, софоролипиды (SLP), трегалозный липид и маннозилэритроловый липид (MEL).

#### Микробные фабрики

Микроорганизмы и продукты их выращивания, полученные согласно настоящему изобретению, можно использовать для получения широкого набора полезных продуктов, включая, например, биопестициды, биологические поверхностно-активные вещества, этанол, питательные соединения, терапевтические белки, такие как инсулин, соединения, пригодные в качестве вакцин, и другие биополимеры. Микроорганизмы, используемые в качестве этих микробных фабрик, могут быть природными, мутантными или рекомбинантными.

#### Микроорганизмы, выращиваемые в соответствии с настоящим изобретением

Микроорганизмы, выращиваемые в соответствии с системами и способами по настоящему изобретению, могут представлять собой, например, бактерии, дрожжи и/или грибы. Эти микроорганизмы могут представлять собой природные или генетически модифицированные микроорганизмы. Например, микроорганизмы могут быть трансформированы определенными генами, чтобы проявлять определенные характеристики.

В конкретных вариантах осуществления микроорганизмы представляют собой бактерии, в том числе грамположительные и грамотрицательные бактерии. Бактерии могут представлять собой, например *Bacillus firmus*, *Bacillus laterosporus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Azobacter vinelandii*, *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aureofaciens* (Kluyver), *Agrobacterium radiobacter*, *Azospirillum brasilense*, *Azobacter chroococcum*, *Rhizobium*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Ralstonia eulophi*, *Clostridium* (*C. butyricum*, *C. tyrobutyricum*, *C. acetobutyricum*, *Clostridium* NIPER 7 и *C. beijerinckii*) и/или *Rhodospirillum rubrum*.

В другом варианте осуществления микроорганизм представляет собой дрожжевой организм или гриб. Виды дрожжей и грибов, пригодные для применения в соответствии с настоящим изобретением, включают *Candida*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces boulardii* sequela и *Saccharomyces torula*, *Issalchenkia*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Wickerhamomyces*, *Starmerella*, *Mycorrhiza*, *Mortierella*, *Phycomyces*, *Blakeslea*, *Thraustochytrium*, *Phythium*, *Entomophthora*, *Aureobasidium pullulans*, *Fusarium venenatum*, *Aspergillus*, *Trichoderma reesei* и/или *Rhizopus* spp.

В одном варианте осуществления дрожжи представляют собой дрожжи-убийцы. Как используют в рамках изобретения, "дрожжи-убийцы" означают штамм дрожжей, характеризующийся секрецией ими токсичных белков или гликопротеинов, к которым сам штамм является устойчивым. Экзотоксины, секретруемые дрожжами-убийцами, способны вызывать гибель других штаммов дрожжей, грибов или бактерий. Например, микроорганизмы, которые могут контролироваться с помощью дрожжей-убийц, включают *Fusarium* и другие нитчатые грибы. Примерами дрожжей-убийц в соответствии с настоящим изобретением являются дрожжи-убийцы, которые можно безопасно использовать в пищевой промышленности и бродительном производстве, например, для изготовления пива, вина и хлеба; дрожжи-убийцы, которые можно использовать для контроля других микроорганизмов, которые могут контаминировать такие процессы производства; дрожжи-убийцы, которые можно использовать в биоконтроле для консервации пищи; дрожжи-убийцы, которые можно использовать для лечения грибковых инфекций как человека, так



и растений; и дрожжи-убийцы, которые можно использовать в технологии рекомбинантных ДНК. Такие дрожжи могут включать, но не ограничиваются ими, *Wickerhamomyces*, *Pichia* (например, *Pichia anomala*, *Pichia guilliermondii*, *Pichia kudrizevii*) *Hansenula*, *Saccharomyces*, *Hanseniaspora*, такие как *Hanseniaspora uvarum*, *Ustilago maydis*, *Debaryomyces hansenii*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Kluveromyces*, *Toruiopsis*, *Ustilago*, *Williopsis*, *Zygosaccharomyces*, такие как *Zygosaccharomyces bailii*, и другие.

В других вариантах осуществления "микроорганизм" может представлять собой культуру клеток, например, такую как культура клеток насекомых, нематод или млекопитающих.

#### Растения-мишени

Растения, для которых может быть полезным применение продуктов и способов по настоящему изобретению, включают: пропашные культуры (например, кукуруза, соя, сорго, арахис, картофель и т.д.), полевые культуры (например, люцерна, пшеница, злаки и т.д.), древесные культуры (например, грецкий орех, миндаль, пекан, фундук, фисташки и т.д.), цитрусовые культуры (например, апельсин, лимон, грейпфрут и т.д.), плодовые культуры (например, яблоки, груши и т.д.), газонные культуры, декоративные культуры (например, цветы, выходящие растения и т.д.), овощи (например, помидоры, морковь и т.д.), лозовые культуры (например, виноград, клубника, черника, ежевика и т.д.), лесные деревья (например, сосна, ель, эвкалипт, тополь и т.д.), хозяйственные пастбища (любая смесь растений, используемых для поддержания травоядных животных).

Полезность может иметь форму, например, увеличенного выхода, качества, резистентности к заболеваниям и вредителям, уменьшения стрессового воздействия (например, соли, засухи, жары и т.д.) и улучшения использования воды.

Следующие растения, для которых могут быть полезными продукты и способы по изобретению, включают все растения, которые принадлежат надсемейству *Viridiplantae*, в частности, однодольные и двудольные растения, включающие кормовые или фуражные бобовые, декоративные растения, пищевые культуры, деревья или кустарники из *Acer* spp., *Actinidia* spp., *Abelmoschus* spp., *Agave sisalana*, *Agropyron* spp., *Agrostis stolonifera*, *Allium* spp., *Amaranthus* spp., *Ammophila arenaria*, *Ananas comosus*, *Annona* spp., *Apium graveolens*, *Arachis* spp., *Artocarpus* spp., *Asparagus officinalis*, *Avena* spp. (например, *Avena sativa*, *Avena fatua*, *Avena byzantina*, *Avena fatua* var. *sativa*, *Avena hybrida*), *Averrhoa carambola*, *Bambusa* spp., *Benincasa hispida*, *Bertholletia excelsa*, *Beta vulgaris*, *Brassica* spp. (например, *Brassica napus*, *Brassica rapa* ssp. [канола, масличный рапс, репа масличная]), *Cadaba farinosa*, *Camellia sinensis*, *Canna indica*, *Cannabis sativa*, *Capsicum* spp., *Carex elata*, *Carica papaya*, *Carissa macrocarpa*, *Carya* spp., *Carthamus tinctorius*, *Castanea* spp., *Ceiba pentandra*, *Cichorium endivia*, *Cinnamomum* spp., *Citrullus lanatus*, *Citrus* spp., *Cocos* spp., *Coffea* spp., *Colocasia esculenta*, *Cola* spp., *Corchorus* spp., *Coriandrum sativum*, *Corylus* spp., *Crataegus* spp., *Crocus sativus*, *Cucurbita* spp., *Cucumis* spp., *Cynara* spp., *Daucus carota*, *Desmodium* spp., *Dimocarpus longan*, *Dioscorea* spp., *Diospyros* spp., *Echinochloa* spp., *Elaeis* (например, *Elaeis guineensis*, *Elaeis oleifera*), *Eleusine coracana*, *Eragrostis tef*, *Erianthus* spp., *Eriobotrya japonica*, *Eucalyptus* spp., *Eugenia uniflora*, *Fagopyrum* spp., *Fagus* spp., *Festuca arundinacea*, *Ficus carica*, *Fortunella* spp., *Fragaria* spp., *Ginkgo biloba*, *Glycine* spp. (например, *Glycine max*, *Soja hispida* или *Soja max*), *Gossypium hirsutum*, *Helianthus* spp. (например, *Helianthus annuus*), *Hemerocallis fulva*, *Hibiscus* spp., *Hordeum* spp. (например, *Hordeum vulgare*), *Ipomoea batatas*, *Juglans* spp., *Lactuca sativa*, *Lathyrus* spp., *Lens culinaris*, *Linum usitatissimum*, *Litchi chinensis*, *Lotus* spp., *Luffa acutangula*, *Lupinus* spp., *Luzula sylvatica*, *Lycopersicon* spp. (например, *Lycopersicon esculentum*, *Lycopersicon lycopersicum*, *Lycopersicon pyriforme*), *Macrotyloma* spp., *Malus* spp., *Malpighia emarginata*, *Mammea americana*, *Mangifera indica*, *Manihot* spp., *Manilkara zapota*, *Medicago sativa*, *Melilotus* spp., *Mentha* spp., *Miscanthus sinensis*, *Momordica* spp., *Morus nigra*, *Musa* spp., *Nicotiana* spp., *Olea* spp., *Opuntia* spp., *Ornithopus* spp., *Oryza* spp. (например, *Oryza sativa*, *Oryza latifolia*), *Panicum miliaceum*, *Panicum virgatum*, *Passiflora edulis*, *Pastinaca sativa*, *Pennisetum* sp., *Persea* spp., *Petroselinum crispum*, *Phalaris arundinacea*, *Phaseolus* spp., *Phleum pratense*, *Phoenix* spp., *Phragmites australis*, *Physalis* spp., *Pinus* spp., *Pistacia vera*, *Pisum* spp., *Poa* spp., *Populus* spp., *Prosopis* spp., *Prunus* spp., *Psidium* spp., *Punica granatum*, *Pyrus communis*, *Quercus* spp., *Raphanus sativus*, *Rheum rhabarbarum*, *Ribes* spp., *Ricinus communis*, *Rubus* spp., *Saccharum* spp., *Salix* spp., *Sambucus* spp., *Secale cereale*, *Sesamum* spp., *Sinapis* sp., *Solanum* spp. (например, *Solanum tuberosum*, *Solanum integrifolium* или *Solanum lycopersicum*), *Sorghum bicolor*, *Spinacia* spp., *Syzygium* spp., *Tagetes* spp., *Tamarindus indica*, *Theobroma cacao*, *Trifolium* spp., *Tripsacum dactyloides*, *Triticosecale rimpaui*, *Triticum* spp. (например, *Triticum aestivum*, *Triticum durum*, *Triticum turgidum*, *Triticum hybernum*, *Triticum macha*, *Triticum sativum*, *Triticum monococcum* или *Triticum vulgare*), *Tropaeolum minus*, *Tropaeolum majus*, *Vaccinium* spp., *Vicia* spp., *Vigna* spp., *Viola odorata*, *Vitis* spp., *Zea mays*, *Zizania palustris*, *Ziziphus* spp., и другие.

Следующие примеры растений включают, но не ограничиваются ими, кукурузу (*Zea mays*), *Brassica* sp. (например, *B. napus*, *B. rapa*, *B. juncea*), в частности те виды *Brassica*, которые пригодны в качестве источников масла семян, люцерну (*Medicago sativa*), рис (*Oryza sativa*), рожь (*Secale cereale*), сорго (*Sorghum bicolor*, *Sorghum vulgare*), щетинник (например, просо африканское (*Pennisetum glaucum*), просо обыкновенное (*Panicum miliaceum*), просо итальянское (*Setaria italica*), просо пальчатое (*Eleusine coracana*)), подсолнечник (*Helianthus annuus*), сафлор (*Carthamus tinctorius*), пшеницу (*Triticum aestivum*), сою (*Glycine max*), табак (*Nicotiana tabacum*), картофель (*Solanum tuberosum*), арахис (*Arachis hypogaea*),

хлопок (*Gossypium barbadense*, *Gossypium hirsutum*), сладкий картофель (*Ipomoea batatas*), маниоку (*Manihot esculenta*), кофе (*Coffea* spp.), кокос (*Cocos nucifera*), ананас (*Ananas comosus*), цитрусовые деревья (*Citrus* spp.), какао (*Theobroma cacao*), чай (*Camellia sinensis*), банан (*Musa* spp.), авокадо (*Persea americana*), фиго (*Ficus casica*), гуаву (*Psidium guajava*), манго (*Mangifera indica*), оливу (*Olea europaea*), папайю (*Carica papaya*), кэшью (*Anacardium occidentale*), орех макадамия (*Macadamia integrifolia*), миндаль (*Prunus amygdalus*), сахарную свеклу (*Beta vulgaris*), сахарный тростник (*Saccharum* spp.), овес, ячмень, овощи, декоративные растения и хвойные растения.

Овощи включают помидоры (*Lycopersicon esculentum*), салат-латук (например, *Lactuca sativa*), зеленые бобы (*Phaseolus vulgaris*), бобы лимские (*Phaseolus limensis*), горох (*Lathyrus* spp.) и представителей рода *Cucumis*, таких как огурец (*C. sativus*), канталупу (*C. cantalupensis*) и мускусную дыню (*C. melo*). Декоративные растения включают азалию (*Rhododendron* spp.), гортензию (*Macrophylla hydrangea*), гибискус (*Hibiscus rosasanensis*), розы (*Rosa* spp.), тюльпаны (*Tulipa* spp.), нарциссы (*Narcissus* spp.), петунии (*Petunia hybrida*), гвоздику (*Dianthus caryophyllus*), пуансеттию (*Euphorbia pulcherrima*) и хризантему. Хвойные растения, которые могут быть использованы для применения на практике вариантов осуществления, включают, например, сосны, такие как сосна ладанная (*Pinus taeda*), сосна Эллиота (*Pinus elliotii*), сосна желтая (*Pinus ponderosa*), сосна скрученная широкохвойная (*Pinus contorta*) и сосна лучистая (*Pinus radiata*); калифорнийскую пихту (*Pseudotsuga menziesii*); тсугу западную (*Tsuga canadensis*); ель ситхинскую (*Picea glauca*); секвойю (*Sequoia sempervirens*); истинные пихты, такие как белая пихта (*Abies amabilis*) и пихта бальзамическая (*Abies balsamea*); и кедры, такие как туя (*Thuja plicata*) и кедр Аляски (*Chamaecyparis nootkatensis*). Растения согласно вариантам осуществления включают сельскохозяйственные растения (например, кукурузу, люцерну, подсолнечник, капусту декоративную, сою, хлопок, сафлор, арахис, сорго, пшеницу, просо, табак и т.д.), такие как кукуруза и соя.

Газонные травы включают, но не ограничиваются ими: мятлик однолетний (*Poa annua*); райграс однолетний (*Lolium multiflorum*); мятлик сплюснутый (*Poa compressa*); овсяницу красную (*Festuca rubra*); полевицу тонкую (*Agrostis tenuis*); полевицу болотную (*Agrostis palustris*); пырей гребенчатый (*Agropyron desertorum*); пырей пустынный (*Agropyron cristatum*); овсяницу жестковатую (*Festuca longifolia*); мятлик луговой (*Poa pratensis*); ежу сборную (*Dactylis glomerata*); райграсе пастбищный (*Lolium perenne*); овсяницу красную (*Festuca rubra*); полевицу белую (*Agrostis alba*); мятлик обыкновенный (*Poa trivialis*); овсяницу желобчатую (*Festuca ovine*); кострец безостый (*Bromus inermis*); овсяницу тростниковую (*Festuca arundinacea*); тимофеевку (*Phleum pratense*); полевицу собачью (*Agrostis canina*); бескильницу расставленную (*Puccinellia distans*); пырей Смита (*Agropyron smithii*); бермудскую траву (*Cynodon* spp.); августинову траву (*Stenotaphrum secundatum*); цойсию японскую (*Zoysia* spp.); гречку заметную (*Paspalum notatum*); аксонопс сжатый (*Axonopus affinis*); эремохлою змеехвостую (*Eremochloa ophiuroides*); кикуйю (*Pennisetum clandestinum*); паспалум влагалищный (*Paspalum vaginatum*); зубровку душистую (*Bouteloua gracilis*); бизонову траву (*Buchloe dactyloids*); бутелуа боковую (*Bouteloua curtipendula*).

Представляющие интерес растения включают зерновые растения, которые обеспечивают представляющие интерес семена зерновых культур, таких как кукуруза, пшеница, ячмень, рис, соя, рожь, просо и т.д. Масличные растения включают хлопок, сою, сафлор, подсолнечник, капусту декоративную, маис, люцерну, пальму, кокос, лен, клещевину, оливу и т.д. Бобовые растения включают бобы и горох. Бобовые включают циамопис, рожковое дерево, пажитник, сою, фасоль многоцветковую, вигну китайскую, фасоль золотистую, лимскую фасоль, стручковую фасоль, чечевицу, бараний горох и т.д.

#### Вредители-мишени

Продукты и способы по настоящему изобретению можно использовать для уменьшения повреждения, вызываемого широким диапазоном вредителей.

Примеры таких вредителей включают членистоногих, включая, например, *Lepidoptera* (например, *Plutellidae*, *Noctuidae*, *Pupalidae*, *Tortricidae*, *Lyoniidae*, *Carposinidae*, *Gelechiidae*, *Crambidae*, *Arctiidae* и *Lymantriidae*), *Hemiptera* (например, *Cicadellidae*, *Delphacidae*, *Psyllidae*, *Aphididae*, *Aleyrodidae*, *Orthozidae*, *Miridae*, *Tingidae*, *Pentatomidae* и *Lygaeidae*), *Coleoptera* (например, *Scarabaeidae*, *Elateridae*, *Coccinellidae*, *Cerambycidae*, *Chrysomelidae* и *Curculionidae*), *Diptera* (например, *Muscidae*, *Calliphoridae*, *Sarcophagidae*, *Anthomyiidae*, *Tephritidae*, *Opomyzoidea* и *Carnoidea*), *Orthoptera* (например, *Acrididae*, *Catantopidae* и *Purgomorphidae*), *Thysanoptera* (например, *Thripidae*, *Aeolothripidae* и *Merothripidae*), *Tylenchida* (например, *Aphelenchoididae* и *Neotylechidae*), *Collembola* (например, *Onychiurus* и *Isotomidae*), *Acarina* (например, *Tetranychidae*, *Dermanyssidae*, *Acaridae* и *Sarcoptidae*), *Stylommatophora* (например, *Philomycidae* и *Bradybaenidae*), *Ascaridida* (например, *Ascaridida* и *Anisakidae*), *Opisthorchiida*, *Strigeidida*, *Blattodea* (например, *Blaberidae*, *Cryptocercidae* и *Panesthiidae*) и *Thysanura* (например, *Lepismatidae*, *Lepidotrichidae* и *Nicoletiidae*).

Примеры вредителей, относящихся к *Lepidoptera*, включают *Chilo suppressalis* Walker, *Snaphalocrocis medinalis*, *Parnara guttata*, *Sesamia inferens*, *Mythimna separata*, *Naranga aenescens* Moore, *Spodoptera litura*, *Etiella zinckenella*, *Etiella behrii*, *Matsumuraes falcana*, *Leguminivora glycinivorella*, *Pleuroptya naafis*, *Agrotis segetum*, *Agrotis ipsilon*, *Helcystogramma triannulellum*, *Xestia c-nigrum*, *Helicoverpa assulta*, *Helicoverpa armigera*, *Mamestra brassicae*, *Spodoptera exigua*, *Plutella xylostella*, *Pieris rapae*, *Pieris brassicae*, *Hel-*

*lulla undalis* и *Autographa nigrisigna*.

Примеры вредителей, относящихся к Hemiptera, включают *Nilaparvata lugens*, *Sogatella furcifera*, *Laelophax stratella*, *Nephotettix cincticeps*, *Recilia dorsalis*, *Stenotus rubrovittatus*, *Trigonotylus caelestialium*, *Leptocorisa chinensis*, *Nezara antennata*, *Nezara viridula*, *Lagynotomus elongatus*, *Scotinophara lurida*, *Eysarcoris annamita*, *Eysarcoris lewisi*, *Eysarcoris ventralis*, *Togo hemipterus* Scott, *Cletus punctiger*, *Piezodorus hiberni*, *Halyomorpha halys*, *Dolycoris baccarum*, *Neotoxoptera formosana*, *Rhopalosiphum padi*, *Rhopalosiphum maidis* и *Aphis glycines*.

Примеры вредителей, относящихся к Coleoptera, включают *Lissorhoptrus oryzophilus* риса, *Oulema oryzae*, *Echinocnemus squameus*, *Melanotus legatus*, *Melanotus fornumi*, *Anomala cuprea*, *Popillia japonica*, *Maladera castanea*, *Epilachna varivestis*, *Paraluperodes nigrobilineatus*, *Epilachna vigintioctomaculata*, *Henosepilachna vigintioctopunctata*, *Harmonia axyridis*, *Anomala rufocuprea*, *Anomala testaceipes*, *Aulacophora indica* и *Phyllotreta striolata*.

Примеры вредителей, относящихся к Diptera, включают *Chlorops oryzae*, *Hydrellia griseola*, *Sitodiplosis mosellana*, *Delia platura*, *Asphondylia yushimai*, *Melanagromyza sojae*, *Liriomyza trifolii*, *Liriomyza sativae*, *Liriomyza huidobrensis* и *Liriomyza bryoniae*.

Примеры вредителей, относящихся к Orthoptera, включают *Oxya yezoensis* и *Oxya japonica*. Примеры вредителей, относящихся к Thysanoptera, включают *Stenchaetothrips biformis* и *Thrips palmi*. Примеры вредителей, относящихся к Tylenchida, включают *Meloidogyne*, *Nematoda* и *Heterodera*. Примеры вредителей, относящихся к Collembola, включают *Onchiurus psuedamatus yagii* и *Onchiurus matsumotoi*. Примеры вредителей, относящихся к Acarina, включают *Penthaleus major*, *Tetranychus urticae*, *Tetranychus kanzawai*, *Tyroglyphus putrescentiae* и *Tarsonemus bilobatus*. Примеры вредителей, относящихся к Stylommatophora, включают *Helix* и *Philomycidae*. Примеры вредителей, относящихся к Ascaridida, включают *Ascaris lumbricoide*. Примеры вредителей, относящихся к Opisthorchiida, включают *Metagonimus yokogawai*. Примеры вредителей, относящихся к Strigeidida, включают *Schistosoma japonicum*. Примеры вредителей, относящихся к Blattodea, включают *Blattella germanica*, *Periplaneta fuliginosa*, *Periplaneta Americana* и *Blatta lateralis*. Примеры вредителей, относящихся к Thysanura, включают *Stenolepisma* и *Lepisma*.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способам и продуктам для контроля нематод. Нематоды представляют собой класс круглых червей или ниточных червей рода *Nemathelminthes*. Нематоды также известны как круглые черви. Примерами представителей класса являются кистообразующие нематоды рода *Heterodera*, нематоды, вызывающие тупоконечность корней, рода *Trichodorus*, нематоды луковицы и стебля рода *Ditylenchus*, золотую нематоду *Heterodera rostochiensis*, клубеньковые нематоды рода *Meloidogyne*, нематоды, вызывающие повреждение корней, рода *Pratylenchus*, цитрусовые нематоды рода *Tylenchulus*, жалящие нематоды рода *Belonalaimus*, и паразитические нематоды растений таких родов, как *Nacobus* и *Radopholus*. В иллюстративном варианте осуществления способ и продукты препятствуют образованию корневых галл, вызываемых нематодами, такими как клубеньковые нематоды и кистообразующие нематоды.

Заболевания растений, являющиеся мишенями

Примеры заболеваний растений, которые можно контролировать с помощью настоящего изобретения, включают следующие:

Заболевания пшеницы: фузариозная гниль (*Fusarium graminearum*, *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *Microdochium nivale*), тифулез (*Typhula* sp., *Micronectriella nivalis*), пыльная головня (*Ustilago tritici*, *U. nuda*), мокрая головня (*Tilletia caries*), пятнистость листьев (*Mycosphaerella graminicola*) и септориоз (*Lepidosphaeria nodorum*);

Заболевания кукурузы: головня (*Ustilago maydis*) и бурая пятнистость (*Cochliobolus heterostrophus*);

Заболевания цитрусов: меланоз (*Diaporthe citri*), парша (*Elsinoe fawcetti*) и плесень (*Penicillium digitatum*, *P. italicum*);

Заболевания яблонь: серая гниль (*Monilinia mali*), мучнистая роса (*Podosphaera leucotricha*), альтернариоз (болезнетворный организм яблонь *Alternaria alternata*), парша (*Venturia inaequalis*), горькая гниль (*Colletotrichum acutatum*) и гниль корневой шейки (*Phytophthora cactorum*);

Заболевания груш: парша (*Venturia nashicola*, *V. pirina*), черная пятнистость (болезнетворный организм груш *Alternaria alternata* Japanese), ржа (*Gymnosporangium haraeaeum*) и плодовая гниль фитопфтора (*Phytophthora cactorum*);

Заболевания персикового дерева: бурая гниль (*Monilinia fructicola*), парша (*Cladosporium carpophilum*) и фомопсисная гниль (*Phomopsis* sp.);

Заболевания винограда: антракноз (*Elsinoe ampelina*), гниль ягод (*Glomerella singulata*), черная пятнистость (*Guignardia bidwellii*), ложномучнистая роса (*Plasmopara viticola*) и серая плесень (*Botrytis cinerea*);

Заболевания хурмы японской: антракноз (*Gloeosporium kaki*) и пятнистость листьев (*Cercospora kaki*, *Mycosphaerella pawae*);

Заболевания тыквы: антракноз (*Colletotrichum lagenarium*), мишеневидная пятнистость листьев (*Corynespora cassicola*), черная микосфереллезная гниль (*Mycosphaerella melonis*), фузариозный вилт (*Fusarium oxysporum*), ложномучнистая роса (*Pseudoperonospora cubensis*) и фитопфторозная гниль (*Phy-*

*tophthora* sp.);

Заболевания помидоров: альтернариоз (*Alternaria solani*), плесень листвы (*Cladosporium fulvum*) и фитофтороз (*Phytophthora infestans*);

Заболевания крестоцветных: альтернариоз (*Alternaria japonica*), белая пятнистость (*Cercospora brassicae*) и ложномучнистая роса (*Peronospora parasitica*);

Заболевания рапса: склеротиниоз (*Sclerotinia sclerotiorum*) и серая пятнистость листьев (*Alternaria brassicae*);

Заболевания сои: церкоспороз семян пурпурный (*Cercospora kikuchii*), сфацелома (*Elsinoe glycines*), стручковая и стеблевая гниль (*Diaporthe phaseolorum* var. *sojae*), ржавчина (*Phakopsora pachyrhizi*) и бурая гниль стеблей (*Phytophthora sojae*);

Заболевания фасоли адзуки: серая плесень (*Botrytis cinerea*) и склеротиниоз (*Sclerotinia sclerotiorum*);

Заболевания фасоли обыкновенной: серая плесень (*Botrytis cinerea*), склеротиниоз семян (*Sclerotinia sclerotiorum*) и антракноз фасоли обыкновенной (*Colletotrichum lindemthianum*);

Заболевания арахиса: пятнистость листьев (*Cercospora personata*), бурая пятнистость листьев (*Cercospora arachidicola*) и южная склероциальная гниль (*Sclerotium rolfsii*);

Заболевания картофеля: бурая пятнистость (*Alternaria solani*) и фитофтороз (*Phytophthora infestans*);

Заболевания хлопчатника: фузариозный вилт (*Fusarium oxysporum*);

Заболевания табака: бурая пятнистость (*Alternaria longipes*), антракноз (*Colletotrichum tabacum*), ложномучнистая роса (*Peronospora tabacina*) и фитофтороз табака (*Phytophthora nicotianae*);

Заболевания сахарной свеклы: церкоспороз листьев (*Cercospora beticola*), пятнистость листьев (*Thanatephorus cucumeris*), танаферозная корневая гниль (*Thanatephorus cucumeris*) и афаномицетная корневая гниль (*Aphanomyces cochlioides*).

Заболевания розы: черная пятнистость (*Diplocarpon rosae*) и мучнистая роса (*Sphaerotheca pannosa*).

Заболевания хризантем и растений семейства астровых: ложномучнистая роса (*Bremia lactucae*) и пятнистость листьев (*Septoria chrysanthemi-indici*);

Заболевания различных растений: заболевания, вызываемые *Pythium* spp. (*Pythium aphanidermatum*, *Pythium debarianum*, *Pythium graminicola*, *Pythium irregulare*, *Pythium ultimum*), серая плесень (*Botrytis cinerea*), склероциальная гниль (*Sclerotinia sclerotiorum*) и черная ножка (*Rhizoctonia solani*), вызываемая *Rhizoctonia* spp.;

Заболевания дайкона: альтернариозная пятнистость листьев (*Alternaria brassicicola*);

Заболевания газонной травы: склероциальная гниль (*Sclerotinia homeocarpa*), бурая пятнистость и ризоктониоз (*Rhizoctonia solani*);

Заболевание банана: церкоспороз (*Mycosphaerella fijiensis*, *Mycosphaerella musicola*, *Pseudocercospora musae*); и

Заболевания семян или заболевания на ранних стадиях роста различных растений, вызванные бактериями рода *Aspergillus*, рода *Penicillium*, рода *Fusarium*, рода *Tricoderma*, рода *Thielaviopsis*, рода *Rhizopus*, рода *Mucor*, рода *Phoma* и рода *Diplodia*.

Заболевания могут быть передающимися через корни, листовыми, присутствующими в сосудистой системе растения или передаваемыми насекомыми, и включают все бактериальные, вирусные и грибные патогены растений.

Композицию по настоящему изобретению для контроля заболеваний растений по настоящему изобретению можно вносить в сельскохозяйственные земли, такие как культивируемые земли, затопляемые поля, газоны и фруктовые сады, или несельскохозяйственные земли. Композиция для контроля заболеваний растений по настоящему изобретению может контролировать заболевания растений на сельскохозяйственных землях и в лесах, в которых выращивают "растения".

Сорняки-мишени

Поскольку с помощью способов и композиций по настоящему изобретению можно контролировать сорняки, приводятся следующие примеры.

Сорняки семейства *Urticaceae*: *Urtica urens*; сорняки семейства *Polygonaceae*: *Polygonum convolvulus*, *Polygonum lapathifolium*, *Polygonum pensylvanicum*, *Polygonum persicaria*, *Polygonum longisetum*, *Polygonum aviculare*, *Polygonum arenastrum*, *Polygonum cuspidatum*, *Rumex japonicas*, *Rumex crispus*, *Rumex obtusifolius* и *Rumex acetosa*; сорняки семейства *Portulacaceae*: *Portulaca oleracea*; сорняки семейства *Caryophyllaceae*: *Stellaria media*, *Cerastium holosteoides*, *Cerastium glomeratum*, *Spergula arvensis* и *Silene gallica*; сорняки семейства *Molluginaceae*: *Mollugo verticillata*; сорняки семейства *Chenopodiaceae*: *Chenopodium album*, *Chenopodium ambrosioides*, *Kochia scoparia*, *Salsola kali* и *Atriplex* spp.; сорняки семейства *Maranthaceae*: *Amaranthus retroflexus*, *Amaranthus viridis*, *Amaranthus lividus*, *Amaranthus spinosus*, *Amaranthus hybridus*, *Amaranthus palmeri*, *Amaranthus rudis*, *Amaranthus patulus*, *Amaranthus tuberculatus*, *Amaranthus blitoides*, *Amaranthus deflexus*, *Amaranthus quitensis*, *Alternanthera philoxeroides*, *Alternanthera sessilis* и *Alternanthera tenella*; сорняки семейства *Papaveraceae*: *Papaver rhoeas* и *Argemone mexicana*; сорняки семейства *Brassicaceae*: *Raphanus raphanistrum*, *Raphanus sativus*, *Sinapis arvensis*, *Capsella bursa-pastoris*, *Brassica juncea*, *Brassica campestris*, *Descurainia pinnata*, *Rorippa islandica*, *Rorippa sylvestris*, *Thlaspi arvense*, *Mya-*

grum rugosum, *Lepidium virginicum* и *Coronopus didymus*; сорняки семейства *Capparaceae*: *Cleome affinis*; сорняки семейства *Fabaceae*: *Aeschynomene indica*, *Aeschynomene rudis*, *Sesbania exaltata*, *Cassia obtusifolia*, *Cassia occidentalis*, *Desmodium tortuosum*, *Desmodium adscendens*, *Trifolium repens*, *Pueraria lobata*, *Vicia angustifolia*, *Indigofera hirsute*, *Indigofera truxillensis* и *Vigna sinensis*; сорняки семейства *Oxalidaceae*: *Oxalis corniculata*, *Oxalis stricta* и *Oxalis oxypetala*; сорняки семейства *Geraniaceae*: *Geranium carolinense* и *Erodium cicutarium*; сорняки семейства *Euphorbiaceae*: *Euphorbia helioscopia*, *Euphorbia maculata*, *Euphorbia humistrata*, *Euphorbia esula*, *Euphorbia heterophylla*, *Euphorbia brasiliensis*, *Acalypha australis*, *Croton glandulosus*, *Croton lobatus*, *Phyllanthus corcovadensis* и *Ricinus communis*; сорняки семейства *Malvaceae*: *Abutilon theophrasti*, *Sida rhombifolia*, *Sida cordifolia*, *Sidaspinosa*, *Sida glaziovii*, *Sida santaremnensis*, *Hibiscus trionum*, *Anoda cristata* и *Malvastrum coromandelianum*; сорняки семейства *Sterculiaceae*: *Waltheria indica*; сорняки семейства *Violaceae*: *Viola arvensis* и *Viola tricolor*; сорняки семейства *Cucurbitaceae*: *Sicyos angulatus*, *Echinocystis lobata* и *Momordica charantia*; сорняки семейства *Lythraceae*: *Lythrum salicaria*; сорняки семейства *Ariaceae*: *Hydrocotyle sibthorpioides*; сорняки семейства *Sapindaceae*: *Cardiospermum halicacabum*; сорняки семейства *Primulaceae*: *Anagallis arvensis*; сорняки семейства *Asclepiadaceae*: *Asclepias syriaca* и *Ampelamus albidus*; сорняки семейства *Rubiaceae*: *Galium aparine*, *Galium spurium* var. *echinospermon*, *Spermacoce latifolia*, *Richardia brasiliensis* и *Borreria alata*; сорняки семейства *Convolvulaceae*: *Ipomoea nil*, *Ipomoea hederacea*, *Ipomoea purpurea*, *Ipomoea hederacea* var. *integriuscula*, *Ipomoea lacunose*, *Ipomoea triloba*, *Ipomoea acuminata*, *Ipomoea hederifolia*, *Ipomoea coccinea*, *Ipomoea quamoclit*, *Ipomoea grandifolia*, *Ipomoea aristolochiaefolia*, *Ipomoea cairica*, *Convolvulus arvensis*, *Calystegia hederacea*, *Calystegia japonica*, *Merremia hederacea*, *Merremia aegyptia*, *Merremia cissoides* и *Jacquemontia tamnifolia*; сорняки семейства *Boraginaceae*: *Myosotis arvensis*; сорняки семейства *Lamiaceae*: *Lamium purpureum*, *Lamium amplexicaule*, *Leonotis nepetaefolia*, *Nyctis suaveolens*, *Nyctis lophanta*, *Leonurus sibiricus* и *Stachys arvensis*; сорняки семейства *Solanaceae*: *Datura stramonium*, *Solanum nigrum*, *Solanum americanum*, *Solanum ptycanthum*, *Solanum sarrachoides*, *Solanum rostratum*, *Solanum aculeatissimum*, *Solanum sisymbriifolium*, *Solanum carolinense*, *Physalis angulata*, *Physalis subglabrata* и *Nicandra physaloides*; сорняки семейства *Scrophulariaceae*: *Veronica hederifolia*, *Veronica persica* и *Veronica arvensis*; сорняки семейства *Plantaginaceae*: *Plantago asiatica*; сорняки семейства *Asteraceae*: *Xanthium pensylvanicum*, *Xanthium occidentale*, *Helianthus annuus*, *Matricaria chamomilla*, *Matricaria perforata*, *Chrysanthemum segetum*, *Matricaria matricarioides*, *Artemisia princeps*, *Artemisia vulgaris*, *Artemisia verlotorum*, *Solidago altissima*, *Taraxacum officinale*, *Galinsoga ciliate*, *Galinsoga parviflora*, *Senecio vulgaris*, *Senecio brasiliensis*, *Senecio grisebachii*, *Conyza bonariensis*, *Conyza Canadensis*, *Ambrosia artemisiaefolia*, *Ambrosia trifida*, *Bidens pilosa*, *Bidens frondosa*, *Bidens subalternans*, *Cirsium arvense*, *Cirsium vulgare*, *Silybum marianum*, *Carduus nutans*, *Lactuca serriola*, *Sonchus oleraceus*, *Sonchus asper*, *Wedelia glauca*, *Melampodium perfoliatum*, *Emilia sonchifolia*, *Tagetes minuta*, *Blainvillea latifolia*, *Tridax procumbens*, *Porophyllum ruderale*, *Acanthospermum australe*, *Acanthospermum hispidum*, *Cardiospermum halicacabum*, *Ageratum conyzoides*, *Eupatorium perfoliatum*, *Eclipta alba*, *Erechtites hieracifolia*, *Gamochaeta spicata*, *Gnaphalium spicatum*, *Jaegeria hirta*, *Parthenium hysterophorus*, *Siegesbeckia orientalis* и *Soliva sessilis*; сорняки семейства *Liliaceae*: *Allium canadense* и *Allium vineale*; сорняки семейства *Commelinaceae*: *Commelina communis*, *Commelina benghalensis* и *Commelina erecta*; сорняки семейства *Poaceae*: *Echinochloa crus-galli*, *Setaria viridis*, *Setaria faberi*, *Setaria glauca*, *Setaria geniculata*, *Digitaria ciliaris*, *Digitaria sanguinalis*, *Digitaria horizontalis*, *Digitaria insularis*, *Eleusine indica*, *Poa annua*, *Alopecurus aequalis*, *Alopecurus myosuroides*, *Avena fatua*, *Sorghum halepense*, *Sorghum vulgare*, *Agropyron repens*, *Lolium multiflorum*, *Lolium perenne*, *Lolium rigidum*, *Bromus secalinus*, *Bromus tectorum*, *Hordeum jubatum*, *Aegilops cylindrica*, *Phalaris arundinacea*, *Phalaris minor*, *Apera spica-venti*, *Panicum dichotomiflorum*, *Panicum texanum*, *Panicum maximum*, *Brachiaria platyphylla*, *Brachiaria ruziziensis*, *Brachiaria plantaginea*, *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria brizantha*, *Brachiaria humidicola*, *Cenchrus echinatus*, *Cenchrus pauciflorus*, *Eriochloa villosa*, *Pennisetum setosum*, *Chloris gayana*, *Eragrostis pilosa*, *Rhynchospora repens*, *Dactyloctenium aegyptium*, *Ischaemum rugosum*, *Oryza sativa*, *Paspalum notatum*, *Paspalum maritimum*, *Pennisetum clandestinum*, *Pennisetum setosum* и *Rottboellia cochinchinensis*; сорняки семейства *Cyperaceae*: *Cyperus microiria*, *Cyperus iria*, *Cyperus odoratus*, *Cyperus rotundus*, *Cyperus esculentus* и *Kyllinga gracillima*; и сорняки семейства *Equisetaceae*: *Equisetum arvense* и *Equisetum palustre*; и т.п.

#### Примеры

Следует понимать, что примеры и варианты осуществления, описанные в настоящем описании, представлены только для иллюстративных целей, и что специалистом в данной области могут быть предложены различные их модификации или изменения, и они входят в пределы сущности и объема настоящей заявки.

Пример 1: Ферментация *Starmerella bombicola* для продуцирования софоролипидов (SLP) в распределяемом реакторе объемом 110 л.

Используют портативный аэролифтный полностью закрытый реактор, управляемый PLC с фильтрацией воды, элементом контроля температуры и встроенным нагнетателем воздуха. Реактор имеет рабочий объем 90 л при выращивании *S. bombicola* для продуцирования SLP.

В предпочтительных вариантах осуществления питательные вещества для продуцирования SLP представляют собой глюкозу, мочевины, дрожжевой экстракт, масло канолы, сульфат магния и фосфат

калия.

Реактор инокулируют 8 литрами жидкой культуры, выращиваемой во флаконах. Длительность цикла культивирования для продуцирования SLP составляет 7-8 суток при 25°C и pH 3,5, с взятием образцов два раза в сутки.

Конечная концентрация SLP составляет приблизительно 10% от рабочего объема, в этом случае приблизительно 9 л продукта, содержащего 300-400 граммов SLP на литр.

Пример 2: Ферментация дрожжей *Wickerhamomyces* и/или *Pichia* для продуцирования софоролипидов в распределяемом реакторе объемом 450 л.

Используют передвижной эрлифтный реактор под управлением PLC с фильтрацией воды, элементом контроля температуры и нагнетателем воздуха для достаточной аэрации. Этот процесс можно проводить способом периодического культивирования. Реактор имеет рабочий объем 400 л при выращивании *Wickerhamomyces* или *Pichia* для продуцирования SLP.

В предпочтительных вариантах осуществления питательные вещества для продуцирования SLP представляют собой глюкозу, мочевины, дрожжевой экстракт, масло канолы, сульфат магния и фосфат калия.

Инокуляция этого реактора требует вплоть до 5% жидкой затравочной культуры от рабочего объема. Длительность цикла культивирования составляет 7 суток при температуре 25°C и pH 3,5, с проведением взятия образцов два раза в сутки.

Конечная концентрация SLP приблизительно составляет 20-25% от рабочего объема, в этом случае образуется более 90 л продукта.

Пример 3: Ферментация дрожжей *Wickerhamomyces* и/или *Pichia* для клеточной и осуществляемой единичными клетками продукции белков в распределяемом реакторе объемом 900 л.

Используют портативный реактор, разделенный на две емкости, под контролем центрального эрлифта для обеспечения перемешивания двух емкостей одновременно. Реактор имеет рабочий объем 600 л при выращивании *Wickerhamomyces* и/или *Pichia* для продуцирования клеток.

В предпочтительном варианте осуществления питательные вещества для продуцирования клеток представляют собой глюкозу или пекарский сахар, мочевины, дрожжевой экстракт, сульфат магния и фосфат калия.

Реактор инокулируют 2% затравочной культуры. Ферментация продолжается в течение 48-72 часов без стабилизации pH, и при температуре от 26 до 32°C.

Конечная концентрация клеток составляет 100 г влажной массы на литр. Концентрация влажной биомассы может достигать 90 килограммов на цикл с концентрацией белка вплоть до 45 килограммов.

Пример 4: Ферментация дрожжей *Wickerhamomyces* и/или *Pichia* для клеточной и осуществляемой единичными клетками продукции белков в распределяемом реакторе объемом 2000 л.

Используют портативный реактор, разделенный на две квадратных емкости с 2 петлями для обмена массой между ними. Реактор имеет рабочий объем 2000 л при выращивании *Wickerhamomyces* и/или *Pichia* для продуцирования клеток.

В предпочтительном варианте осуществления питательные вещества для продуцирования клеток представляют собой глюкозу или пекарский сахар, мочевины, дрожжевой экстракт, сульфат магния и фосфат калия.

Реактор инокулируют 2% затравочной культуры. Ферментация продолжается в течение 48-72 часов без стабилизации pH, и при температуре от 26 до 32°C.

Конечная концентрация клеток составляет 100 г влажной массы на литр. Концентрация влажной биомассы может достигать 200 килограммов на цикл с концентрацией белка вплоть до 100 килограммов.

Пример 5: Синергичная ферментация комбинированной культуры *Acinetobacter venetianus* и *Bacillus subtilis* в распределяемом реакторе объемом 900 л.

Используют портативный реактор, разделенный на две емкости, под контролем центрального эрлифта для обеспечения перемешивания двух емкостей одновременно. Реактор имеет рабочий объем 600 л при выращивании *Acinetobacter/Bacillus subtilis* для продукции биологического поверхностно-активного вещества.

В предпочтительном варианте осуществления питательные вещества для продуцирования биологического поверхностно-активного вещества представляют собой глюкозу, порошковую патоку, сахарозу, фосфат калия, фосфат натрия, хлорид калия, сульфат магния, хлорид кальция, мочевины, хлорид аммония и дрожжевой экстракт.

Реактор, содержащий 600 л питательной среды с pH 6,8-7,0, инокулируют 60 литрами затравочной культуры, содержащей как *Acinetobacter*, так и *Bacillus subtilis*. Ферментация продолжается в течение 24 часов без стабилизации pH и при температуре от 28 до 30°C.

Конечная концентрация клеток составляет вплоть до 1 миллиарда клеток комбинированной культуры с приблизительно равным распределением обоих микроорганизмов.

Пример 6: Ферментация *Starmerella bombicola* для продуцирования софоролипидов в портативном распределяемом реакторе объемом 14 л.

Этот реактор представляет собой автоклавируемую стеклянную емкость в рубашке с продувкой воздухом и мешалкой. Он оборудован зондом для определения растворенного кислорода, pH, температуры и пены; он имеет встроенную контролируемую станцию с цветным сенсорным экраном, встроенными насосами, контроллерами потока газа, и контроллерами pH/ DO пены/уровня.

Рабочий объем реактора составляет 10 л.

Питательная среда содержит глюкозу, дрожжевой экстракт, мочевины и растительное масло. Инокулят может представлять собой культуру *Starmerella bombicola* возрастом от 1 до 2 суток в количестве приблизительно 5-10% от общего объема культуры. Культивирование и сбор готового продукта продолжаются в течение 5-14 суток. Конечная продукция софоролипида может достигнуть 1-2 килограмма на цикл.

Пример 7: Ферментация *Pseudozyma aphidis* для продуцирования маннозилэритритного липида (MEL) в портативном распределяемом реакторе объемом 14 л.

Этот реактор представляет собой автоклавируемую стеклянную емкость в рубашке с продувкой воздухом и мешалкой Rushton. Он оборудован зондом для определения растворенного кислорода, pH, температуры и пены; он имеет встроенную контролируемую станцию с цветным сенсорным экраном, встроенными насосами, контроллерами потока газа, и контроллерами pH/ DO пены/уровня. Рабочий объем реактора составляет 10 литров.

Композиция питательной среды: нитрат натрия, фосфат калия, сульфат магния, дрожжевой экстракт и растительное масло. Инокулят может представлять собой культуру *Pseudozyma aphidis* возрастом от 1 до 2 суток в количестве приблизительно 5-10% от общего объема культуры. Длительность культивирования и сбор образцов: 9-15 суток. Общая продукция MEL: 800-1000 граммов.

Пример 8: Культивирование *Bacillus subtilis* в распределяемой гибридной системе

Эта система представляет собой гибридную систему между жидкофазной ферментацией и твердофазной ферментацией. В этой системе большое количество индивидуальных насыщенных питательной средой гидрофильных частиц, суспендированы в матрикс из гидрофобных частиц. Гидрофильные частицы могут представлять собой, например, белую сажу, перлит, вермикулит или диатомитовую землю. Гидрофобные частицы могут представлять собой, например, покрытый полимером песок (гидрофобный песок), перлит, вермикулит.

Заклучение гидрофильных частиц в гидрофобные частицы создает стерильную среду микрокультуры. Также гидрофобный матрикс позволяет эффективный газообмен для культур. Рабочий объем: 500 мл - 1 метрическая тонна.

Композиция питательной среды: питательный бульон, среда M9, триптический соевый бульон. Типы инокулята и его количество: инокулят может иметь возраст 12-16 ч и может составлять приблизительно 1-5% от общего объема культуры. Длительность культивирования: 1-3 суток. Конечное количество CFU: 1-2 миллиарда клеток/спор на 1 грамм.

Пример 9: Культивирование *Trichoderma harzianum* в распределяемой гибридной системе

Сходный способ был разработан для культивирования *Mucorhiza* с использованием гидрофобного песка и диатомитовой земли, как описано в примере 8. Эта система имеет 1 часть по массе диатомитовой земли, насыщенной питательной средой, гомогенизированной в 6 частях гидрофобного песка. Затем добавляли порошковый инокулят. Этой смеси позволяли инкубироваться в оптимальных условиях для роста грибов. Подсчет в образце проводили каждые сутки.

Рабочий объем: от 100 мл до 1 метрической тонны. Композиция питательной среды: картофельный бульон с декстрозой и соевый пептон. Типы инокулята и его количество: сухие споры или пропатулы мицелия. Длительность культивирования: 7-10 суток. Общая продукция массы: вплоть до  $10^9$  пропатул/грамм.

Пример 10: Получение средства для изменения почвы на основе софоролипидов

Для настоящего изобретения природную смесь софоролипидов синтезировали посредством ферментации *S. bombicola* в ферментационной среде, содержащей 100 г/л глюкозы, 10 г/л дрожжевого экстракта, 1 г/л мочевины и 100 мл/л масла канолы в воде. После ферментации в течение 5-7 суток приблизительно 500 г/л софоролипидов выпадало в осадок в качестве коричневого слоя на дне емкости для ферментации.

Слой софоролипидов собирали и разбавляли в 4 раза до концентрации SLP 125 г/л. Значение pH доводили до 6,5-7,0 с использованием гидроксида натрия. Преимущественно, бульон с софоролипидами также содержит некоторые остаточные дрожжевые клетки и микроэлементы метаболитов и компоненты среды. Это обеспечивает присутствие высоких концентраций маннопротеина в качестве белка наружной поверхности стенки дрожжевых клеток (маннопротеин является в высокой степени эффективным биоэмульгатором, способным достигать индекса эмульгирования вплоть до 80%); присутствие биополимерного бета-глюкана (эмульгатор) в стенках дрожжевых клеток; присутствие софоролипидов в культуре; и присутствие растворителей и/или других метаболитов (например, молочная кислота, этанол, и т.д.).

В этом процессе ферментации может продуцироваться два различных продукта: один содержит чистый слой SLP и один содержит целый бульон, содержащий культуру *S. bombicola* и SLP.

Все патенты, патентные заявки, предварительные заявки и публикации, упоминаемые или цитиро-

ванные в настоящем описании, включены в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме, включая все фигуры и таблицы, если они не являются несоответствующими с точными формулировками настоящего описания.

Описание в настоящем описании любого аспекта или варианта осуществления изобретения с использованием терминов, таких как "содержащий", "имеющий", "включающий" или "вмещающий", в отношении элемента или элементов предназначено для обоснования сходного аспекта или варианта осуществления изобретения, который "состоит из", "по существу состоит из" или "по существу содержит" этот конкретный элемент или элементы, если нет иных указаний или если контекст этому не противоречит (например, композиция, описанная в настоящем описании, содержащая конкретный элемент, должна пониматься также как описание композиции, состоящей из этого элемента, если нет иных указаний или если контекст этому не противоречит).

Использование термина "содержащий" в настоящем описании включает "по существу состоящий из" и "состоящий из". Термин "по существу состоящий из", как используют в рамках изобретения, ограничивает объем ингредиентов и стадий до конкретных материалов или стадий, и материалов и стадий, которые не влияют существенно на основную и новую характеристику(и) настоящего изобретения, например, композиции и способы для стимуляции роста растений. Термин "по существу состоящий из", как используют в рамках изобретения, ограничивает объем ингредиентов и стадий до конкретных материалов и стадий, и материалов и стадий, которые не влияют существенно на основную и новую характеристику(и) настоящего изобретения.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Система для получения продукта на основе микроорганизмов и обеспечения доступности продукта на основе микроорганизмов для потребителя, где указанная система содержит:

(i) установку для выращивания микроорганизмов, содержащую, по меньшей мере, 10 независимых модульных емкостей для выращивания, в которых могут расти одни и те же или различные микроорганизмы в одних и тех же или в различных условиях выращивания, для получения композиции на основе микроорганизмов в каждой емкости для выращивания, где среда для роста, насыщение кислородом, pH, встряхивание и/или температура могут независимо контролироваться для каждой из указанных емкостей для выращивания; где микроорганизмы выбраны из *Starmerella bombicola*, *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis*, *Pseudozyma aphidis*, *Acinetobacter venetianus*, *Wickerhamomyces* и *Pichia*; и где композицию на основе микроорганизмов собирают из емкостей для выращивания, тем самым получая продукт на основе микроорганизмов, который затем может быть предоставлен потребителю; и

(ii) транспортирующий компонент для транспортировки указанного продукта на основе микроорганизмов, продуцированного в установке для выращивания микроорганизмов, где указанный компонент для транспортировки содержит контейнеры объемом от 2 галлонов до 1000 галлонов (от 7,6 до 3785 л) и/или трубопроводы для транспортировки продукта на основе микроорганизмов из установки для выращивания микроорганизмов в центр распределения или в область, где продукт на основе микроорганизмов будет использоваться,

где установка для выращивания микроорганизмов согласно (i) расположена менее чем в 300 милях (482803 м) от области, где продукт на основе микроорганизмов будет использоваться,

где продукт на основе микроорганизмов содержит микроорганизм и среду, в которой микроорганизмы выращивали, и

где продукт на основе микроорганизмов не требует стабилизации.

2. Система по п.1, где каждая из указанных, по меньшей мере, 10 модульных емкостей для выращивания имеет свои собственные элементы контроля температуры, растворенного кислорода и pH.

3. Система по п.1, где установка для выращивания микроорганизмов согласно (i) находится в пределах 100 миль (160934 м) от места, где продукт на основе микроорганизмов будет использоваться.

4. Способ получения продукта на основе микроорганизмов и обеспечения доступности продукта на основе микроорганизмов для потребителя, где указанный способ включает выращивание микроорганизмов на установке для выращивания микроорганизмов системы по п.1, содержащей, по меньшей мере, десять независимых модульных емкостей для выращивания для получения композиции на основе микроорганизмов из каждой емкости для выращивания, где установка для выращивания микроорганизмов расположена менее чем в 300 милях (482803 м) от области применения, причем микроорганизмы выбраны из *Starmerella bombicola*, *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis*, *Pseudozyma aphidis*, *Acinetobacter venetianus*, *Wickerhamomyces* и *Pichia*, где одни и те же или разные микроорганизмы могут выращиваться в каждой емкости для выращивания в одних и тех же или разных условиях выращивания, где условия выращивания, которые могут отличаться между емкостями для выращивания, включают одно или несколько из среды для выращивания, оксигенации, pH, встряхивания и температуры, причем продукт на основе микроорганизмов содержит микроорганизмы, а также среду, в которой микроорганизмы выращивали, и причем продукт на основе микроорганизмов не требует стабилизации.

5. Способ по п.4, где клеточная масса микроорганизмов в транспортируемом продукте на основе



микроорганизмов составляет менее 10% от общей массы продукта на основе микроорганизмов.

6. Способ по п.4, где источник микроорганизмов, которые выращивают на установке для выращивания микроорганизмов, находится в регионе, в котором продукт на основе микроорганизмов будет использоваться.

7. Способ по п.4, где продукт на основе микроорганизмов состоит из микроорганизмов и среды, в которой микроорганизмы выращивались и необязательно одного или нескольких дополнительных ингредиентов, выбранных из носителей, питательных веществ, средств для отслеживания, смачивающих веществ, пеногасителей и средств для коррекции pH.

8. Способ по п.4, где продукт на основе микроорганизмов содержит биологическое поверхностно-активное вещество.

9. Способ по п.8, где биологическое поверхностно-активное вещество представляет собой гликолипид, выбранный из софоролипида (SLP), трегалозного липида, рамнолипида (RLP) и/или маннозилэритролового липида (MEL).

10. Способ по п.9, где биологическое поверхностно-активное вещество продуцируется *Starmerella bombicola*.

11. Способ улучшения здоровья и урожая растения,

причем способ включает выращивание *Starmerella bombicola* на установке для выращивания микроорганизмов системы по п.1, содержащей, по меньшей мере, десять независимых модульных емкостей для выращивания для получения композиции на основе микроорганизмов из каждой емкости для выращивания, и нанесение продукта на основе микроорганизмов в почву,

причем установка для выращивания микроорганизмов согласно (i) расположена менее чем в 300 милях (482803 м) от области и/или окружающей среды,

причем продукт на основе микроорганизмов содержит *Starmerella bombicola*, софоролипидное биологическое поверхностно-активное вещество, а также среду, в которой выращивали *Starmerella bombicola*, и

причем продукт на основе микроорганизмов не требует стабилизации.

12. Способ по п.11, где продукт на основе микроорганизмов при применении содержит живые микроорганизмы в вегетативной форме, форме спор или форме мицелия, а также среду, в которой микроорганизмы выращивались.

13. Способ по п.11, где указанное применение осуществляют через систему орошения.

14. Способ по п.11, который дополнительно включает мониторинг после указанного применения по меньшей мере одного из: содержания продукта на основе микроорганизмов в окружающей среде, в которой его применили, или перемещения продукта на основе микроорганизмов в окружающей среде, в которой его применили.

15. Способ по п.11, который дополнительно включает мониторинг показателя здоровья и/или урожая растения, в которое вносят продукт на основе микроорганизмов.

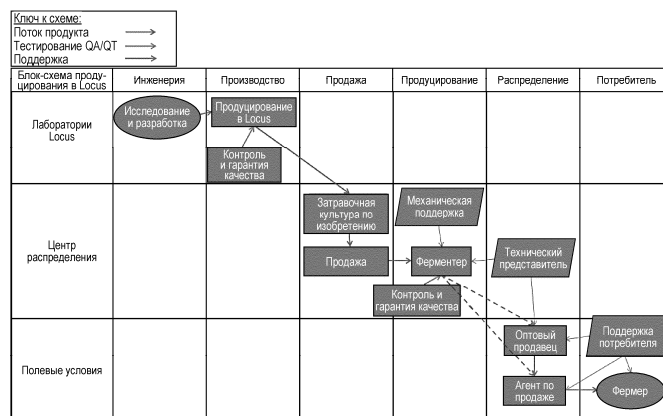
16. Способ по п.11, используемый для улучшения одного или нескольких качеств почвы.

17. Способ по п.16, используемый для удержания воды в сухой почве.

18. Способ по п.16, используемый для улучшения удержания питательных веществ в истощенной почве.

19. Способ по п.16, используемый для усиления всасывания питательных веществ в корни растений.

20. Способ по п.16, используемый для усиления всасывания воды в корни растений.



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2