(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 201892477 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2019.04.30

(22) Дата подачи заявки
2017.04.20

(51) Int. Cl. ***A01P 21/00*** (2006.01)
A01G 9/20 (2006.01)
A01N 43/16 (2006.01)
C07C 229/76 (2006.01)
C07H 3/06 (2006.01)

(54) ПРЕПАРАТЫ И СПОСОБЫ ДЛЯ ОБРАБОТКИ ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИХ ОРГАНИЗМОВ И ПОВЫШЕНИЯ ИХ КАЧЕСТВА И УРОЖАЙНОСТИ С ПОМОЩЬЮ ПРЕПАРАТОВ КОМПОЗИТОВ ГЛИКАНОВ

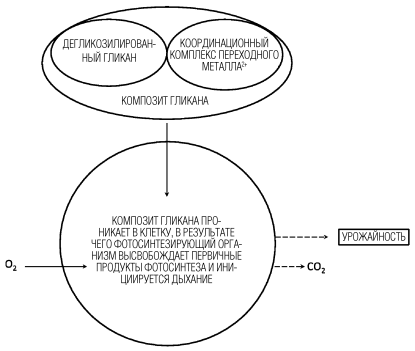
(31) **62/329,226**
(32) **2016.04.29**
(33) **US**
(86) **PCT/US2017/028489**
(87) **WO 2017/189311 2017.11.02**

(71) Заявитель:
ИННОВЕЙШН ХАММЕР ЭлЭлСи (US)

(72) Изобретатель:
Нономура Артур М. (US)

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

(57) В изобретении предлагаются композиты гликанов и способы применения композитов гликанов для обработки фотосинтезирующих организмов, включающие стадии приготовления композиций координационных соединений разветвленных дегликозилированных гликанов, которые обусловливают доступность гликанов из водных сред, их стабильность в процессе хранения, удобные объемы для нанесения полученной смеси на один или более фотосинтезирующих организмов, доставку в фотосинтезирующие организмы, основанный на метаболизме рост сельскохозяйственных культур, повышение качества и урожайности сельскохозяйственных культур, а также системы и композиции для них.



201892477 A1

201892477 A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-552951EA/019

ПРЕПАРАТЫ И СПОСОБЫ ДЛЯ ОБРАБОТКИ ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИХ ОРГАНИЗМОВ И ПОВЫШЕНИЯ ИХ КАЧЕСТВА И УРОЖАЙНОСТИ С ПОМОЩЬЮ ПРЕПАРАТОВ КОМПОЗИТОВ ГЛИКАНОВ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

Эта заявка испрашивает приоритет предварительной заявки на патент США № 62/329226, зарегистрированной 29 апреля 2016 года, содержание которой включено в настоящее изобретение путем ссылки на нее.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

Раскрытые в изобретении варианты осуществления относятся к способам обработки фотосинтезирующих организмов, например, полей с фотосинтезирующими организмами, в том числе с сельскохозяйственными культурами, и/или усиления их роста с помощью препаратов, которые включают композиции композитов гликанов, содержащие компоненты разветвленного дегликозилированного гликана с компонентами координационного соединения. Более того, в случае жидких композиций, указанные выше препараты могут включать один или более консервантов, которые обеспечивают стабильность препаратов при их транспортировке и хранении. Раскрытые в изобретении варианты осуществления включают системы доставки смесей гликанов в фотосинтезирующие организмы.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Раскрытые в изобретении варианты осуществления относятся к нанесению на фотосинтезирующие организмы препаратов композита гликана, состоящих из одного или более разветвленных дегликозилированных гликанов и координационных соединений переходных металлов$^{2+}$.

Жизнеспособность фотосинтезирующих организмов в сельскохозяйственных культурах зависит от биологического производства ими первичных продуктов фотосинтеза, в частности, сахаров, и композиции по настоящим вариантам осуществления повышают возможность использования этих первичных продуктов фотосинтеза для улучшения жизнеспособности и роста

сельскохозяйственных культур. Недавно достигнутые значительные успехи в повышении урожайности сельскохозяйственных культур относятся к описанным в патентной литературе водорастворимым глюкозидам. Эти глюкозиды доказали свою эффективность при некорневом применении при нормах расхода в диапазоне нескольких килограммов на гектар, но существует потребность в препаратах, которые являются более активными и эффективными при нормах расхода в диапазоне нескольких граммов на гектар и которые раскрыты в вариантах осуществления настоящего изобретения. Разветвленные дегликозилированные гликаны по настоящему варианту осуществления имеет более высокую активность по сравнению с традиционными композициями, при этом компоненты координационного соединения переходного металла$^{2+}$ композитов гликанов дополнительно повышают активность. Кроме того, в результате воздействия на движение нектара сока, композиты гликанов повышают производительность по потоку образующихся первичных продуктов фотосинтеза у сельскохозяйственных культур. Более того, способы и композиции композитов гликанов могут быть применяться для повышения качества и/или урожайности культур при длительном сохранении активности композита гликана.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Целью раскрытых в изобретении вариантов осуществления является создание способов и препаратов для обработки фотосинтезирующих организмов и повышения качества и урожайности сельскохозяйственных культур. Препараты включают один или более разветвленных дегликозилированных гликанов в сочетании с координационными соединениями переходных металлов$^{2+}$, вследствие чего образуется композит гликана. В вариантах осуществления предлагаются способы и композиции для приготовления композитов гликанов.

Еще одной целью раскрытых в изобретении вариантов осуществления является создание жидких препаратов, включающих один или более препаратов композитов гликанов с консервантами для сохранения высокой активности.

Еще одной целью раскрытых в изобретении вариантов осуществления является создание способов и препаратов для

обработки фотосинтезирующих организмов, таких как растения, и для усиления роста фотосинтезирующего организма, например, в растительных культурах, путем применения препарата композита гликана.

Еще одной целью раскрытых в изобретении вариантов осуществления является создание препаратов композита гликана, включающих компоненты металлов$^{2+}$ координационных соединений переходных металлов и обеспечивающих присутствие анионных компонентов координационных соединений переходных металлов$^{2+}$.

Еще одной целью раскрытых в изобретении вариантов осуществления является создание препаратов композита гликана, включающих растворимые переходные металлы$^{2+}$, предпочтительно, в форме их координационных соединений.

Еще одной целью раскрытых в изобретении вариантов осуществления является создание препаратов композита гликана, включающих один или более анионных компонентов координационных соединений переходных металлов$^{2+}$.

Еще одной целью раскрытых в изобретении вариантов осуществления является создание препаратов композита гликана, включающих один или более анионных компонентов координационных соединений переходных металлов$^{2+}$, где анионный компонент выбирают из полидентатных секвестрирующих реагентов.

Еще одной целью раскрытых в изобретении вариантов осуществления является создание способа для приготовления композиции композита гликана, которая включает один или более компонентов консерванта, сохраняющих активность жидких растворов во время транспортировки и хранения.

Еще одной целью является создание способов обработки фотосинтезирующих организмов, в частности, растений, и препаратов для роста фотосинтезирующих организмов, включающих препараты композита гликана, расфасованные в жидкой и/или сухой форме, которые являются доступными и обладают проникающей способностью при использовании транскутикулярного, трансэпидермального и/или трансмембранного транспорта, при поглощении семенами, листвой и корнями из жидкой фазы, при прорастании, и/или которые поддерживают рост в условиях низкой

освещенности.

Еще одной целью является создание препаратов для обработки и роста фотосинтезирующих организмов и их частей, и, в частности, применительно к сельскохозяйственным культурам.

Еще одной целью является создание препарата для обработки семян растений, включающего композиции композита гликана, и способов контроля роста зеленых насаждений, в частности, применительно к семенам, для ускорения их прорастания и роста.

Еще одной целью является создание препаратов для обработки цветов и/или плодов, включающих композиции композита гликана, для контроля качества роста фотосинтезирующих организмов, в частности, применительно к корням, листве, цветам и/или плодам, которые прикреплены к растению до сбора урожая, к сорванным цветам и/или плодам после сбора урожая, и/или для улучшения вкусовых качеств.

Еще одной целью является создание композиций композитов гликанов.

Еще одной целью является создание композитов гликанов, состоящих из разветвленных дегликозилированных гликанов и переходных металлов$^{2+}$ в растворимой форме.

Еще одной целью является создание композитов гликанов, состоящих из разветвленных дегликозилированных гликанов, полученных из природных продуктов.

Еще одной целью является создание композита гликана и/или его компонентов, применяемого в качестве новых регуляторов роста растений для повышения урожайности и качества сельскохозяйственных культур.

Еще одной целью является создание новых регуляторов роста растений на основе композиций гликанов для контроля дыхания фотосинтезирующих организмов.

Еще одной целью является создание среды на основе композиции гликанов для фотосинтезирующих организмов при культивации, способствующей дыханию при низкой интенсивности освещенности в условиях от затененности до темноты.

Еще одной целью является создание среды, обеспечивающей ускорение дыхания для фотосинтезирующих организмов при

культивации, путем обработки с помощью композитов гликанов. В некоторых вариантах осуществления, корни в любое время суток или ночью и/или побеги в ночной темноте подвергают воздействию ускорителей дыхания, которые повышают уровень кислорода (O_2) в окружающей среде либо при обработке фотосинтезирующего организма газообразным O_2 с концентрацией >25%, либо путем применения O_2-генераторов. Кроме того, еще одной целью является создание среды, способствующей дыханию, для фотосинтезирующих организмов при культивации путем обработки с помощью композитов гликанов, в которой фотосинтезирующие организмы при культивации путем обработки композитами гликанов могут подвергаться воздействию ускорителей дыхания.

Еще одной целью является создание среды, способствующей накоплению первичных продуктов фотосинтеза, для фотосинтезирующих организмов при культивации путем обработки композитами гликанов. Фотосинтезирующие организмы при культивации путем обработки композитами гликанов могут быть подвергнуты воздействию замедлителей дыхания, способствующих накоплению первичных продуктов фотосинтеза.

Еще одной целью является создание композитов гликанов и/или их компонентов для применения в качестве природных биостимуляторов для повышения эффективности использования питательных веществ, повышения толерантности к абиотическому стрессу и/или для повышения урожайности и качества сельскохозяйственных культур.

Еще одной целью является создание способов обработки с помощью композита гликана для фотосинтетического роста, включающего разветвленные дегликозилированные гликаны и координационные соединения переходных металлов$^{2+}$. В конкретных вариантах осуществления, например, таком как удобное использование в полевых условиях, комплекс удобен для нанесения на фотосинтезирующие организмы и совершенно безопасен для фотосинтезирующих организмов в результате приготовления препаратов, расфасованных в жидкой и/или сухой форме, и может быть использован в качестве добавки при обработках сельскохозяйственных культур.

Еще одной целью является создание способов обработки и композиций для фотосинтезирующих организмов, включающих композиции экзогенных композитов гликанов, для контроля эндогенной деконъюгации первичных продуктов фотосинтеза, которые повышают качество и количество собранных урожаев в сельском хозяйстве.

Еще одной целью является создание препарата для обработки и роста фотосинтезирующих организмов, включающего композиции экзогенных композитов гликанов, для обработки эндогенных первичных продуктов фотосинтеза, которые повышают вкусовые характеристики собранных урожаев культур в сельском хозяйстве.

Еще одной целью является создание препарата для обработки и роста фотосинтезирующих организмов, включающего композиции экзогенных композитов гликанов, которые предохраняют от порчи для хранения с помощью одного или более безвредных для растений консервантов.

Еще одной целью является создание препарата для обработки и роста фотосинтезирующих организмов, включающего системы композитов гликанов, для улучшения роста культур при выращивании их методом гидропоники.

Еще одной целью является создание препарата для обработки и роста фотосинтезирующих организмов, включающего композиты гликанов в форме синергетических систем, для улучшения эстетического вида сельскохозяйственных культур за счет снижения частоты случаев солнечных ожогов.

Еще одной целью является создание способа обработки фотосинтезирующих организмов, который повышает питательную ценность нектара сока полевых цветущих растений, включающего нанесение композитов гликанов на используемые в качестве пищи цветущие растения для значительного повышения их пользы для здоровья опылителей и пасущегося скота.

В конкретных вариантах осуществления, композит гликана приготавливают в форме комплекса, состоящего из одного или более компонентов метил-α-D-маннопиранозила$(Man)_{1-3}$ и одного или более компонентов координационных соединений цитрат-Ca^{2+}-Mn^{2+} и,

необязательно, с одним или более d-переходными металлами$^{2+}$, и/или дополнительно приготавливают с одним или более консервантами.

В конкретных вариантах осуществления, композит гликана приготавливают в форме комплекса, состоящего из одного или более компонентов метил-α-D-Man_{1-3} и одного или более компонентов координационных соединений малат-Ca^{2+}-Mn^{2+} и, необязательно, с одним или более d-переходными металлами$^{2+}$, и/или с одним или более консервантами.

В конкретных вариантах осуществления, композит гликана приготавливают в форме комплекса, состоящего из одного или более компонентов метил-α-D-Man_{1-3} и одного или более компонентов координационных соединений глутарат-Ca^{2+}-Mn^{2+} и, необязательно, с одним или более d-переходными металлами$^{2+}$, и/или дополнительно с одним или более консервантами.

В конкретных вариантах осуществления, композит гликана приготавливают в форме комплекса, состоящего из одного или более компонентов метил-α-D-Man_{1-3} и одного или более компонентов координационных соединений сукцинат-Ca^{2+}-Mn^{2+} и, необязательно, с одним или более d-переходными металлами$^{2+}$, и/или дополнительно с одним или более консервантами.

В конкретных вариантах осуществления, композит гликана приготавливают в форме комплекса, состоящего из одного или более компонентов Man_{1-3}N-связанного-гликана, одного или более компонентов координационных соединений цитрат-Ca^{2+}-Mn^{2+} и, необязательно, с одним или более d-переходными металлами$^{2+}$, и/или дополнительно с одним или более необязательными консервантами.

В конкретных вариантах осуществления, композит гликана приготавливают в форме комплекса, состоящего из одного или более компонентов Man_{1-3}N-связанного-гликана, одного или более компонентов координационных соединений Ca^{2+}-Mn^{2+}, необязательно, с одним или более d-переходными металлами$^{2+}$, и/или дополнительно с одним или более необязательными консервантами.

В конкретных вариантах осуществления, композит гликана приготавливают в форме комплекса, состоящего из одного или более компонентов метил-α-D-Glc_1, одного или более компонентов

координационных соединений цитрат-Ca^{2+}-Mn^{2+}, необязательно, с одним или более d-переходными металлами$^{2+}$, и/или дополнительно с одним или более необязательными консервантами.

В конкретных вариантах осуществления, композит гликана приготавливают в форме комплекса, состоящего из одного или более компонентов дегликозилированного гликана, компонентов координационных соединений Ca^{2+}-Mn^{2+}, необязательно, с одним или более d-переходными металлами$^{2+}$, и/или дополнительно с одним или более необязательными консервантами.

В конкретных вариантах осуществления, композит гликана приготавливают в форме комплекса, состоящего из одного или более компонентов дегликозилированного O-связанного гликана из смол растительного происхождения, компонентов координационных соединений Ca^{2+}-Mn^{2+}, необязательно, с одним или более d-переходными металлами$^{2+}$, и/или дополнительно с одним или более необязательными консервантами.

В конкретных вариантах осуществления, композит гликана приготавливают в форме комплекса, состоящего из одного или более компонентов дегликозилированного N-связанного гликана из инвертазы, компонентов координационных соединений Ca^{2+}-Mn^{2+}, необязательно, с одним или более d-переходными металлами$^{2+}$, и/или дополнительно с одним или более необязательными консервантами.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

На фигуре 1 схематично представлены поочередно сверху вниз процессы, которые лежат в основе способов и композиций для обработки фотосинтезирующих организмов с помощью композита гликана в соответствии с конкретными вариантами осуществления. В примере, изображенном на фигуре 1, нанесение композита гликана приводит к воздействию раствора на растительную клетку, что повышает качество и урожайность сельскохозяйственных культур. Композит гликана доставляется в клетку, метаболизируется, в результате чего происходит передача энергии. Этот метаболический путь, определяемый композитом гликана, направленный на высвобождение первичных продуктов фотосинтеза из хранимого запаса и запуск дыхания $O_2 \rightarrow CO_2$, приводит к увеличению

продуктивности растений при повышении их качества и урожайности.

На фигуре 2 графически представлены примеры разветвленных дегликозилированных гликанов, которые могут применяться для приготовления композитов гликанов. Основная структура в верхнем левом углу страницы соответствует триманнопиранозил-N-гликану, в то время как другие структуры являются примерами гликанов с более высокими степенями разветвления. Показанные основные структуры инвертазы подходят для выбора одного или более разветвленных дегликозилированных гликанов с предпочтительными концевыми лигандами композита гликана. Примеры N-гликанов, содержащих высокое количество маннопиранозила, с концевыми маннопиранозильными лигандами характеризуются тенденцией к более высокой степени разветвления сверху вниз на странице. Изображенная в верхнем левом углу страницы структура $Man_3GlcNAc_2$ соответствует "Ethan" в примерах 1, 6, 9, 16 и 17. Используемые условные сокращенные обозначения: Glc - глюкопиранозил, Man - маннопиранозил, NAc - N-ацетил.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Если не указано иначе, то все используемые в изобретении технические и научные термины имеют их традиционное для данной области техники значение. Используемые в изобретении термины имеют следующие значения.

"М" обозначает молярную концентрацию, "мкМ " обозначает микромолярную концентрацию, и "мМ" обозначает миллимолярную концентрацию.

"кДа" обозначает килодальтон

"PGR" обозначает регулятор роста растений.

"Процент" или "%" представляет собой процент по массе, если не указано иначе.

"Ppb" обозначает частей на миллиард по массе.

"Ppm" обозначает частей на миллион по массе.

"Ppt" обозначает частей на тысячу по массе.

Номенклатура - ботанические названия обычно приводятся в форме обычных названий, которые могут быть отнесены к научной номенклатуре, применяемой в большинстве научных публикаций.

Статистика - сравнение средних значений с помощью критерия

Стьюдента (двустороннего) показывает значимость при $p \leq 0,05$.

"Усиленный рост" или "усиление роста" означает промотирование, повышение или улучшение скорости роста фотосинтезирующего организма, такого как растение, и/или увеличение или промотирование увеличения размера и/или выхода, и/или повышение качественных характеристик фотосинтезирующего организма или его частей, регуляцию потока первичных продуктов фотосинтеза, увеличение потока первичных продуктов фотосинтеза для дыхания, улучшение органолептических свойств, повышение гидростатического давления, улучшение аромата, накопление первичных продуктов фотосинтеза в фотосинтезирующем организме и/или улучшение вкусовых характеристик фотосинтезирующего организма, в частности, содержания сахара по шкале Брикса (Brix) в его семенах, плодах, цветках, нектаре, корнях, стволе или его частях.

"Фотосинтезирующий организм" обозначает жизненные формы, которые синтезируют первичные продукты фотосинтеза, включающие растения с C_3-, C_4- и CAM-фотосинтезом, и фотосинтезирующие эукариоты, включающие, но этим не ограничивая, эукариоты из следующих предпочтительных супергрупп: Archaeplastida (архепластидовые водоросли), такие как Plantae, Chlorophyta (зеленые водоросли) и Rhodophyta (красные водоросли), и Chromoveolata (хромальвеоляты), такие как Phaeophyta (бурые водоросли). Фотосинтезирующие организмы могут также обозначать растения, травяной покров и декоративные растения, культуры, включающие продовольственные, кормовые, волокнистые, пищевые и сельскохозяйственные культуры и их урожаи, и растения, как высшие, так и низшие растения, и подобные растениям организмы. Системы, способы и препараты могут успешно применяться в случае любых видов фотосинтезирующих живых организмов.

Композиции могут применяться в случае практически любого вида живых фотосинтезирующих организмов. Фотосинтезирующие организмы, на которые может оказываться благоприятное воздействие, включают, но этим не ограничивая, все виды Plantae, в частности, виды растений во всех группах культур, признанные

Управлением по охране окружающей среды США (2012: 40 CFR 180.41), например, такие как люцерна, перец душистый, амарант, дудник, анис, аннато, руккола, bach ciao, мелисса, ячмень, базилик, бобы, свекла, бурачник, хлебное дерево, брокколи, брюссельская капуста, лопух, кровохлебка, капуста, канталупа, каперсы, тмин, кардамон, кардон, морковь, маниок, клещевина, цветная капуста, кавалио, брокколи, сельдерей душистый, сельдерей салатный, спаржевый салат, зерновые злаки, мангольд, чайот, кервель, нут, цикорий, шнитт-лук, кинза, коричное дерево, гвоздика, клевер, кофейное дерево, листовая капуста, кориандр, кукуруза, хлопчатник, клюква, кресс, огурец, тмин, карри, дайкон, лилейник, укроп, эндивий, молочай, баклажан, фенхель, пажитник, лен, кормовое растение, рябчик, корнишон, тыква бутылочная, виноград, хлебный злак, чеснок, хьюар, трава для сена, конопля, шандра, хоста, иссоп, канавалия мечевидная, хикама, хохоба, капуста кормовая, кольраби, кудзу, лук-порей, гиацинтовый боб, лаванда, зеленолистные овощи, лук-порей, бобовое растение, лемонграсс, чечевица, леспедеца, салат-латук, люпин, мускатный орех, майоран, дыня, просо, мята, мизуна, момордика, дыня мускусная, горчица, настурция, мускатный орех, овес, лук, лебеда, петрушка, пастернак, пастбищные растения, горох, арахис, перец, перечная мята, перилла, кукуруза лопающаяся, картофель, мак, тыква, портулак, радиккио, редис, рапс зеленый, ревень, рис, розмарин, брюква, рожь, сафлор, шафран, шалфей, эспарцет, козлобородник, поручейник сахарный, кунжут, лук-шалот, сорго, соя, шпинат, тыква крупноплодная столовая, стевия, земляника, подсолнечник, лавр благородный, сладкий картофель, сахарная свекла, сахарный тростник, листовая свекла, канавалия мечевидная, колоказия, таро, полынь, чайное растение, теосинте, тимьян, табак, помидор, клевер, тритикале, куркума, турнепс, ваниль, вернония, вика, арбуз, пшеница, водяной рис, грушанка, ясменник, полынь, ямс, кабачок и другие подобные растения; плодоносящие растения, такие как миндаль, яблоня, абрикосовое дерево, авокадо, боярышник азароль, банановое дерево, буковый орешник, ежевика, голубика, бразильский орех, хлебное дерево, орех серый, орех кешью, вишня,

каштан, каштан карликовый, цитрусовое растение, дерево какао, кокона, кофейное дерево, смородина, питахайя, бузина, инжир, орешник, заманиха, крыжовник, грейпфрут, гуава, орех гикори, черника, киви, кумкват, лимон, лайм, логанова ягода, мушмула японская, орех макадамия, манго, мангостан, мартиния, боярышник летний, наранхилла, нектарин, нопалес, орех, окра, маслина, апельсиновое дерево, папайя, маракуйя, персиковое дерево, грушевое дерево, орех-пекан, перец, фисташковое дерево, слива, плумкот, слива домашняя, помелло, айва, малина, розелла, танжело, мандарин, тангор, боярышник мексиканский, мексиканский томат, агли, грецкий орех, пряности и другие подобные растения; цветочные и декоративные растения, такие как тысячелистник, адениум, агава, агератум, алоэ, алиссум, анемон, аквилегия, астра, азалия, бегония, стрелиция, дицентра великолепная, бурачник, семейство бромелиевых, бугенвилия, буддлея, кактус, календула, камелия, колокольчик, осока, гвоздика садовая, целозия, хризантема, клематис, клеоме, колеус, космос, шафран, кротон, цикламен, георгин, желтый нарцисс, маргаритка, одуванчик, краснодневник, дельфиниум, гвоздика, диэтес, дигиталис, мандевилла, щавель, василек, бересклет, незабудка, фремонтодендрон, фуксия, гардения, газания, герань, гербера, глоксиния, гладиолус, гибискус, гортензия, бальзамин, жасмин, лилия, сирень, лизиантус, лобелия, бархатцы, мезембриантемум, губастик, незабудки, нарцисс, бальзамин Хокера, кувшинка, ослинник, олеандр, орхидея, декоративные растения, оксалис, анютины глазки, пенстемон, пион, петуния, плюмерия, пуансеттия, синюха, гречиха, мак, портулак, примула, лютик, рододендрон, роза, шалфей, крестовник, додекатеон, антирринум, паслен, золотарник, маттиола, ti, торения, тюльпан, вербена, барвинок, растение семейства фиалковых, фиалка, юкка, цинния и другие подобные растения; комнатные цветы и растения, такие как африканская фиалка, аглаонема переменчивая, суккулент, диффенбахия, драконник, фикус, хоста, спатифиллум, филодендрон, сциндапсус, гевея, сансевиерия, хлорофитум и другие подобные растения; деревья, такие как пихта, осина, береза, кедр, коричник, кизил, саговниковидные деревья, кипарис, метасеквойя,

вяз, фиговое дерево, ель, гинкго, голосеменные растения, лиственные деревья, палисандр, джакаранда, можжевельник, лавр, бобовое растение, лириодендрон, магнолия, красное дерево, клен, дуб, пальмовое дерево, ель, смолосемянник, подорожник, тополь, секвойя вечнозеленая, розовое дерево, цереус гигантский, ива, платан, тис, тиковое дерево, ива, тиссовое дерево, рождественское дерево, деревья для производства пиломатериалов, деревья для производства бумаги и другие подобные растения; травы, такие как газонная трава, дерн, мятлик луговой, полевица, бермудская трава, костер, вейник, осока, полевица болотная, пырейник, овсяница, овсец, импората, мискантус, молина, просо, паспалум, пеннисетум, канареечник, роа, семена луговых трав и другие подобные растения; карликовые растения; привитые растения; черенки; гибриды и другие подобные растения. Помимо указанных выше культур, препараты могут быть также нанесены на вторичные метаболиты источников фотосинтезирующих организмов, такие как просо прутьевидное, ятрофа, молочай, табак, лишайник, бурая водоросль, диатомовая водоросль, цианобактерии, бактерии, дуналиелла, наннохлоропсис, хлорелла, гематококк, эухеума; мхи, такие как лишайник и папоротник, и другие подобные растения. Этот список следует рассматривать только в качестве примера, и он не является исчерпывающим. Специалисты в этой области могут легко определить и другие фотосинтезирующие организмы, на которые может оказываться благоприятное воздействие в результате применения композиций и способов по настоящим вариантам осуществления. Раскрытые в изобретении способы и препараты могут быть использованы для усиления роста ювенильных и зрелых фотосинтезирующих организмов, а также черенков, тканей, семян, меристем, каллюс, клеток и при вегетативном размножении. Композиты гликанов могут быть применены при вымачивании и нанесении покрытия на семена перед посевом при расходе в диапазоне 10-1000 мкг композитов гликанов на семя, предпочтительно, в диапазоне 20-300 мкг/семя.

В качестве варианта, семена, клубни, луковицы, подземные побеги и черенки могут быть обработаны в борозде одновременно с посевом. Обычно, анатомическая локализация, на которую наносят

композицию способом по изобретению, должна иметь достаточно большую поверхность, для того чтобы фотосинтезирующий организм мог абсорбировать композицию. Например, желательно охватывать проросшую семядолю (то есть, "семядолю"), подземный побег картофеля, луковицу, клубень или другие большие поверхности, которые способствуют протеканию процесса абсорбции, такие как ярко выраженные листья и корни. Плодоносящие растения могут быть обработаны до и после начала появления почек, плодов и образования семян. Для растений, таких как однолетние растения, многолетние растения, деревья, орхидеи, семейство гесneриевых и кактусы, у которых могут быть обработаны стебли, корни и/или стволы, способы нанесения включают обработку побегов распылением и/или обработку побегов и корней одновременно распылением и орошением или нанесение путем окунания или путем раздельного нанесения на корни и побеги. На выращиваемые в промышленном масштабе водные и морские культуры, такие как спирулина, аонори, лавер, морская капуста, макроцистис, нори и вакаме, композиты гликанов могут быть нанесены путем аэрозольного орошения, распыления, нанесения кистью или погружения в стерильные растворы в пресной или морской воде с содержанием 10 ppb - 3% композитов гликанов в течение времени 15-90 минут, достаточного для осуществления процесса абсорбции.

Композит гликана

Способы и препараты в соответствии с конкретными раскрытыми в изобретении вариантами осуществления предназначены, например, для обработки любых из упомянутых выше фотосинтезирующих организмов, таких как растения, и для повышения качества, усиления роста и/или повышения качества и урожайности выращиваемых культур. Это может быть достигнуто путем нанесения препаратов композита гликана, состоящего из следующих компонентов: один или более разветвленных дегликозилированных гликанов с конкретными координационными соединениями переходных металлов$^{2+}$. Препараты могут быть нанесены в сухой или жидкой форме непосредственно на фотосинтезирующие организмы. В конкретных вариантах осуществления, жидкие препараты дополнительно могут включать консервант для предотвращения их

порчи вовремя транспортировки и хранения. Раскрытые в изобретении способы делают композиты гликанов легко доступными для усвоения фотосинтезирующими организмами.

Компонент разветвленного дегликозилированного гликана

В конкретных раскрытых в изобретении вариантах осуществления предлагаются разветвленные дегликозилированные гликаны, которые являются компонентами композита гликана. Далее в описании изобретения, этот компонент разветвленного дегликозилированного гликана будет обозначаться как компонент "гликана" или "дегликозилированного гликана" композита гликана.

Химически синтезированные гликаны являются достаточно дорогими веществами и, за исключением некоторых из вариантов осуществления изобретения, их применение в сельском хозяйстве не может быть экономически оправдано. Однако, в раскрытых в изобретении вариантах осуществления предлагается ряд экономически эффективных продуктов, получаемых в результате дегликозилирования макромолекул конкретных недорогих веществ, и эти продукты могут применяться в качестве компонентов гликана в композите гликана. Благодаря этому, применение конкретных разветвленных дегликозилированных гликанов делает обработку сельскохозяйственных культур экономически оправданной. Подходящие гликаны могут быть получены путем расщепления, то есть, дегликозилирования субъединиц гликана в их исходной молекуле. Обычно, макромолекулы с молекулярной массой больше чем несколько 1000 кДа представляют собой химические структуры, которые являются слишком крупными для обработки и усвоения фотосинтезирующим организмом, поэтому, предпочтительными компонентами разветвленного дегликозилированного гликана являются дегликозилированные гликаны с молекулярной массой меньше чем несколько 10 кДа. Дегликозилированные гликаны обычно получают из таких макромолекул, как белки, гликопротеины, макромолекулы N-связанного-гликана и/или макромолекулы O-связанного-гликана. Они могут представлять собой продукты гидролиза или других известных процессов, образующихся в результате воздействия кислот, оснований, ферментов и/или микроорганизмов, разрывающих химические связи. Биосинтез

компонентов разветвленных гликанов с помощью растения или дрожжей может быть экономически эффективным по сравнению с получением продуктов методом химического синтеза и их очисткой, затраты в случае которых является слишком высокими. Например, стоимость чистых высоко разветвленных N-связанных гликанов маннана может составлять несколько $1000 за грамм, в то время как подходящие высоко разветвленные N-связанные гликаны маннана, полученные дегликозилированием из белков в соответствии с раскрытыми в изобретении вариантами осуществления, могут стоить несколько центов за грамм.

Растительные источники подходящих субъединиц гликана включают следующие: Cyanaposis tetragonalobus и Cyanaposis psoraloides, гуаровые камеди, $GalMan_2$; Caesalpinia spinosa, камеди тары, $GalMan_3$; Ceratonia siliqua, камеди бобов рожкового дерева, $GalMan_{1-8}$; Amorphophallus konjac, конжаковые камеди, Glc_2Man_2; Canavalia ensiformis, канавалия мечевидная, N-связанные гликаны; плод фителефаса, Man_n; рожковое дерево; кофейные бобы; пажитник греческий; ячмень; пальмы, лилии, касатики и бобовые растения, ткани эндосперма, Man_n; древесина хвойных пород и кора различных деревьев; береза; голосемянные растения; ель обыкновенная и зеленые водоросли хлорофитум, такие как Dasycladales, Characeae, Codium fragile, Caulerpa и Acetabularia acetabulum содержащие маннан водоросли. Кроме того, структуры производных разветвленного маннана, такие как представленные на фигуре 2, могут обнаруживаться в грибках, таких как Hansenula holstii, Rhodotorula acheniorum, в гликопротеинах, таких как конканавалинах и ферментах; и, предпочтительно, в инвертазах. Другие природные источники включают микробов, бактерии, грибы, животных, таких как членистоногие, ракообразные, моллюски, рыбы, криль и насекомые, и отходы, такие как гуано, потроха, кровь, костный мозг, печень, органы животных, кора, древесные опилки, древесина, кости, наружный скелет, опара, прилов и навоз.

Упомянутые выше камеди, белки и другие макромолекулы могут быть подвергнуты дегликозилированию с помощью известных в промышленности процессов. Например, некоторые макромолекулы разветвленных гликанов могут быть микробиологически переработаны

с помощью строго регулируемой ферментации, а другие макромолекулы могут быть подвергнуты другим различным известным процессам ферментативной переработки, и в результате чего, макромолекулы разветвленных гликанов могут быть частично гидролизованы с расщеплением камедей с молекулярной массой >100000 кДа до дегликозилированного гликана со средними молекулярными массами 0,2-10 кДа. В результате, дегликозилированные гликаны с значительно меньшими молекулярными массами могут усваиваться растениями. При сравнении с различными природными источниками, разветвленные дегликозилированные гликаны из инвертаз продемонстрировали наилучшие технико-экономические показатели, характеризуясь низкой стоимостью и высокой активностью, что делает возможным их производство в промышленном масштабе, смотрите таблицу 1.

Таблица 1. Сравнение природных источников для получения разветвленных дегликозилированных гликанов. Сравнивали относительные активности и стоимости после получения конечных продуктов из различных источников. В большинстве случаев, более высокая активность обуславливала более низкую стоимость. Инвертаза являлась источником с самой низкой стоимостью и с самой высокой активностью дегликозилированных гликанов, подходящих для производства.

Источник	Активность	Относительная стоимость
Инвертаза	1000-1000000	$
Растительные камеди	10-100	$$$
Моллюски	5-10	$$$$
Древесные опилки	1	$$$$

Активность гликанов зависела в очень большой степени от их терминальных лигандов, что давало основание считать очень важным моментом идентифицирование этой части структуры гликана. Подходящие концевые лиганды гликана идентифицировали в гликопиранозах, таких как галактопиранозы, глюкопиранозы и,

предпочтительно, маннопиранозы, в их алкил-, ацил- и арилзамещенных производных и в ацилгликозаминах. Из этого следовало, что подходящими гликанами являются катионные, анионные и нейтральные полимеры, альдозилы и/или кетозилы, и разветвленные гликаны с любым из вышеуказанных терминальных лигандов. Величины молекулярных масс обычно изменялись в диапазоне от 0,1 до >500 кДа, предпочтительно, от 0,2 до 10 кДа и, наиболее предпочтительно, в диапазоне от 0,5 до 2 кДа.

Используются следующие условные сокращенные обозначения гликанов:

Gal обозначает галактопиранозил;

Glc обозначает глюкопиранозил;

GlcNAc обозначает N-ацетилглюкозаминозил;

GalNAc обозначает N-ацетилгалактозаминозил;

Gly обозначает гликопиранозил;

Lac обозначает лактозил;

Ara обозначает арабинозил;

Man обозначает маннопиранозил и

Man_n обозначает поли-Man.

$_{j, m, n}$ подстрочные индексы обозначают соответствующие длины цепей, где m=1-24 и n=1-24, если не указано иначе. Например, $GalGlcMan_n$ обозначает галактопиранозилглюкопиранозилманнопиранозил$_n$ и Glc_mMan_n обозначает глюкопиранозил$_m$маннопиранозил$_n$.

Написанные через дефис числа указывают диапазон величин. Например, $Man_{8-14}GlcNAc_{1-2}$ обозначает разветвленный маннопиранозил$_{8-14}$N-ацетилглюкозамин$_{1-2}$, в котором Man_{8-14} обозначает диапазон от 8 до 14 единиц Man в разветвленной цепи.

Примеры предпочтительных разветвленных цепей включают Man_nGly с алкилом, ацилом, арилом, полиацилом, полиалкилом, амином или без замещения; альдосилы; кетосилы; $GlcNAc_n$; алкилGlc_n; метилGlc_n; метил$GlcGly_n$; алкилMan_n; Gal_nMan_2; пентозы; арабинозы; рибозы; ксилозы; гексозы; маннозы, маннозиды, маннаны; глюкозы, глюкозиды, глюканы; галактозы, галактозиды, галактаны, раффинозы; Gly_2, например, Glc_2 сахарозы, трегалозы, мальтозы, гентиобиозы, целлобиозы, GalGlc лактозы, ксилобиозы,

ламинарибиозы; Gal_mMan_n; $Gal_mGlc_jMan_n$; Glc_jMan_n; $XyloMan_n$; $AraMan_n$; $AraGal_n$; фруктофуранозил$_m$Glc$_j$; Lac; мальтопиранозилы; Man_{1-3}, такие как Man_1, метил-α-D-Man, метил-α-D-Man_{1-3}, метил-α-D-Man_3Gal; триозилы, такие как, Man_3; и их производные и комбинации.

Подходящими гликанами в смеси дегликозилированных гликанов композита гликана являются, например, Man_1, Man_3, метил-D-Man_n и метил-D-Glc_n. Дегликозилированные гликаны могут быть выбраны из коротких цепей, таких как Man_n, где n представляет собой число от 1 до 8, предпочтительно, Man_{1-3}; O-связанные-разветвленные-цепи, такие как $Man_{m-n}Gly$, $Man_{m-n}Glc$, $Man_{m-n}Gal$ и $Man_{m-n}GalGlc$, где m представляет собой число от 1 до 8, и n представляет собой число от 1 до 8. Еще более подходящие гликаны представляют собой цепи с молекулярной массой >1 кДа, такие как, например, Gal_mMan_n, Gal_nMan_n, Glc_mMan_n, $Gal_jGlc_mMan_n$, j=1-24, m=1-24, n=1-24; предпочтительными являются дегликозилированные гликаны с молекулярной массой <1 кДа, где j=1-8, m=1-8, n=1-8, такие как, например, Gal_2Man_2, и в их комбинациях и смесях. Предпочтительными дегликозилированными гликанами являются O-связанные гликаны и N-связанные гликаны с Gly_{m-n}, где m=1-8 и n=1-8. Дополнительные примеры включают следующие основные структуры Man_n, такие как α-маннобиозы, маннотетрозы, маннопентозы; амино-функционализированные-маннозы, например, глицилMan_n, аланилMan_n и аминилMan_n, где n=1-24.

Предпочтительные разветвленные дегликозилированные гликаны могут включать один или более N-связанных-гликанов, таких как, например, $Man_nGlcNAc_{1-3}$ и $Man_{m-n}GlyNAc_{1-3}$, например, $Man_{8-15}GlcNAc_2$. Предпочтительные N-связанные-гликаны выбирают из низкомолекулярных Man_nN-гликанов, поэтому, $Man_3GlcNAc_{1-3}$ и триманнопиранозил-N-гликаны являются самыми предпочтительными. Подходящие производные могут иметь более высокие степени разветвления, такие как $Man_{m-n}GalNAc_{1-3}$, например, $Man_{8-15}GlcNAc_{1-2}$ и $Man_{9-20}GlcNAc_{1-3}$, и такие производные, как N-гликан, ацил-, алкил- и арилзамещенные. Кроме того, подходящие разветвленные GalGlcManN-гликаны включают Glc:Gal:Man при соотношениях 1:2:16-

9:2:20, как например, $Gal_4Man_{10}GlcNAc_2$. Кроме того, N-ацетилгликозаминил-терминальные лиганды, такие как N-ацетилгалактозамины, N-ацетилглюкозамины и N-ацетилнейроамины, могут быть выбраны из $GalNAc_{1-3}$, $GlcNAc_{1-3}$, $GlcNAc_2$, $Man_{1-8}GlcNAc_{1-3}$, их производных и комбинаций.

Компоненты координационного соединения переходных металлов$^{2+}$

В раскрытых в изобретении вариантах осуществления предлагаются композиции координационного соединения переходного металла$^{2+}$ композита гликана. В конкретных вариантах осуществления, координационное соединение переходного металла$^{2+}$ состоит из компонента металлов$^{2+}$ и одного или более анионных компонентов. Определенные металлы$^{2+}$ вводят в структуру голопротеина для надежного связывания гликанов. В отсутствии определенных металлов$^{2+}$, структура белка является незавершенной, не обладающей конфигурацией для конъюгирования. Поэтому, эти предпочтительные металлы$^{2+}$ включают кальций (Ca^{2+}) и марганец (Mn^{2+}), и предпочтительным является их совместное использование, так как и Ca^{2+} и Mn^{2+} встречаются в связывающих сайтах природного голопротеина. Однако, помимо Mn^{2+}, могут быть добавлены, использованы вместо или введены в препарат другие подходящие переходные металлы$^{2+}$, включая один или более D-переходных металлов$^{2+}$, выбранных из кобальта (Co^{2+}), никеля (Ni^{2+}) и цинка (Zn^{2+}) и их комбинаций, но всегда в присутствии Ca^{2+}. Кроме того, присутствие железа (Fe^{2+}) и магния (Mg^{2+}) и/или одного или более из упомянутых выше d-переходных металлов$^{2+}$ может дополнительно поддерживать структурную конформацию голопротеина при воздействии Ca^{2+} и Mn^{2+}. Эти металлы$^{2+}$ и/или их водорастворимые соли могут вводиться в композит гликана в форме жидких или твердых веществ, например, с содержанием в диапазонах 0,1-100 ppm Ca^{2+}, 0,1-100 ppm Mg^{2+}, 0,1-10 ppm Fe^{2+}, 0,1-10 ppm Mn^{2+}, 0,1-10 ppm Zn^{2+}, 0,001-1 ppb Co^{2+} и 0,001-0,1 ppb Ni^{2+}.

Предпочтительные анионные компоненты упомянутых выше координационных соединений переходных металлов$^{2+}$ композитов гликанов могут быть выбраны из секвестирующих анионов, дополнительно действующих как ускорители дыхания, которые приведены далее: оксалоацетаты, ацетаты, аконитаты, цитраты,

изоцитраты, фумараты, глутараты, кетоглутараты, малаты и сукцинаты. Подходящие кислоты для их производных, указанные в изобретении, но не исключая и другие, выбирали из аконитовой, лимонной, фумаровой, глутаровой, яблочной, щавелевоуксусной, янтарной и других подобных кислот для координационных соединений переходных металлов$^{2+}$, и, предпочтительно, при мольных соотношениях анион:катион 10:1 или более, в диапазоне от 100 ppb до 30% по массе. Аконитовые кислоты включают аконитаты, цис- и транс-аконитовые кислоты, соли и другие подобные соединения. Лимонные кислоты включают цитраты, лимонную, изолимонную и метиллимонную кислоты, ангидриды лимонных кислот, цитратфосфаты, соли и другие подобные соединения. Фумаровые кислоты включают фумараты, фумаровые кислоты, алкилфумараты соли и другие подобные соединения. Глутаровые кислоты включают глутараты, кетоглутараты, глутаровую кислоту, глутаровый ангидрид, алкилглутараты, глутаматы, соли и другие подобные соединения. Яблочные кислоты включают малаты, яблочные кислоты, малеиновые кислоты, малеаты, малеиновые ангидриды, алкилмалеиновые ангидриды, малеилпротеины, соли и другие подобные соединения. Щавелевоуксусные кислоты включают ацетаты, уксусные кислоты, такие как ледяная уксусная кислота и vinegar, ацетил-CoA; ацетилфосфат, уксусные ангидриды; алкилацетаты, алкилацетоацетаты, оксалоацетаты, соли и другие подобные соединения. Янтарные кислоты включают сукцинаты, янтарные кислоты, алкилянтарные кислоты, сукциниловый ангидрид, соли и другие подобные соединения. Упомянутые выше соли включают одно или более координационных соединений Ca, Mg, Na и переходного металла$^{2+}$ с упомянутыми выше кислотами. Анионные компоненты координационных соединений переходного металла$^{2+}$ могут быть предпочтительно выбраны из их фосфатов, таких как, например, малат-фосфаты, цитрат-фосфаты и другие подобные фосфаты. Обычно, компоненты чистых координационных соединений переходного металла$^{2+}$ производятся промышленностью большими партиями. Анионные компоненты координационных соединений переходного металла$^{2+}$ могут быть выбраны из подходящих полидентатных хелатообразующих реагентов, таких как алкиламидные

хелатообразующие реагенты, приведенные далее: аммониевые, натриевые и/или калиевые соли алкиламидных хелатообразующих реагентов, таких как этилендиаминтетрауксусные кислоты (EDTA), N-гидроксиэтилэтилендиаминтетрауксусные кислоты (HeEDTA), этилендиамин-N,N'-бис-2-гидроксифенилуксусные кислоты (EDDHA), ди(ортогидроксибензил)этилендиаминдиуксусные кислоты (HBED), диэтилентриаминпентауксусные кислоты (DTPA); метилглицин N,N-диуксусные кислоты (MGDA); глутаминдиуксусные кислоты (GLDA) и другие подобные соединения. Анионные компоненты обычно добавляют в жидкие растворы металлов при минимальном мольном соотношении анион:катион 7:1, и, предпочтительно, 10:1 или более.

Предпочтительные соли координационных соединений переходного металла$^{2+}$ могут быть получены реакцией металла$^{2+}$ и анионных компонентов. Кроме того, подходящие выпускаемые промышленностью соли включают производные N, P, K, S, C, H, O, Cl, их вторичные производные и питательные микроэлементы, и другие применяемые в сельском хозяйстве комбинации известных соединений. Например, N в форме аминов, амидов, нитратов, полиациламинов; C в форме карбонатов; Cl в форме хлоридов; P в форме фосфатов, фосфитов; S в форме сульфатов; H в форме кислот; OH в форме оснований и в форме других подобных соединений.

Влияние взятых в качестве примеров компонентов на функциональные характеристики композитов гликанов

Композиты гликанов (GC) состоят из нескольких соединений, имеющих отличающиеся химические характеристики, каждое из которых вносит свой вклад в требуемые свойства композитов в целом. Лучше всего это подтверждается тем фактом, что при раздельном нанесении компонентов композита гликана на сельскохозяйственные культуры в поле, их действия не согласованы друг с другом. Непосредственное нанесение каждого компонента на раздельные группы растений возможно, но оно не является предпочтительным из-за отсутствия положительного эффекта. Поэтому, проводились эксперименты по исследованию функциональных характеристик взятых в качестве примеров композиты гликанов и, наряду с этим, доказывалось, что каждый в отдельности из компонентов не обладает действием, адекватным действию

композита.

Рост фотосинтезирующих сельскохозяйственных культур происходит в результате дыхательного метаболизма первичных продуктов фотосинтеза, обеспечивающего формирование, существование и воспроизводство. Однако соотношение дыхания к фотосинтезу составляет менее одной трети. Для повышения этого соотношения, использовалось регулирование роста сельскохозяйственных культур за счет более эффективного использования первичных продуктов фотосинтеза для дыхания, чем раньше, путем применения композитов гликанов в соответствии с раскрытыми в изобретении вариантами осуществления. Этому способствовало эффективная обработка с помощью композитов гликанов в темноте (то есть в окружающей среде, которая не подвергается воздействию солнечного света), например, либо семян и корней под землей в течение дня, либо корней и/или всходов ночью. Для сельского хозяйства принесло бы большую пользу повышение урожайности за счет оптимизации обработки с помощью композитов гликанов семян, плодов, цветов, нектара сока, первичных продуктов фотосинтеза, корней, стеблей и/или стволов, то есть путем нанесения на всходы и/или корни этих новых систем. В совокупности, применение композитов гликанов для достижения положительного эффекта реализуется с помощью раскрытых в изобретении вариантов осуществления.

В отличие от фотосинтезирующих листьев, семена являются полностью респираторными. Вследствие этого, ускорение прорастания семян достигалось в результате нанесения на них чрезвычайно низких доз GC по сравнению с регулированием образования питательных веществ. Ответные реакции роста на ранних стадиях при применении раздельных компонентов сравнивали с применением комплексных GC, и проводили анализ результатов на статистическую значимость сравниваемых средних значений. Было четко показано, что раздельные компоненты не работают, но вместе они вносили свой вклад в общую эффективность. Кроме того, координационные соединения переходного металла$^{2+}$ по варианту осуществления, которые включали полный набор d-переходных металлов$^{2+}$, улучшали характеристики композитных препаратов.

Дыхание зависит от доступного кислорода (O_2), и поступление O_2 усиливали путем совместного нанесения или же путем обработки сельскохозяйственных культур с помощью GC для повышения O_2. Направленное повышение O_2 в конкретных местах, в частности, в корнях или семенах, более эффективно достигалось в полевых условиях путем применения O_2-генерирующих соединений, таких как пероксиды. Подходящие недорогие пероксиды включают H_2O_2 и пероксиды карбамида, при этом хорошо известные O_2-генерирующие гранулированные соединения, такие как CaO_2 и/или MgO_2, медленно высвобождали O_2 при обработке сельскохозяйственных культур с помощью GC. CaO_2 и MgO_2 обеспечивали создание обогащенных O_2 окружающих сред, которые поддерживали дыхание, в частности, при нанесении на семена или корни в качестве отдельных источников кислорода в сочетании с препаратами по варианту осуществления. Пероксиды представляют собой O_2-генерирующие компоненты, которые могут быть введены в сухие препараты, но предпочтительно, чтобы их хранили и наносили на растение до, во время или после обработки с помощью GC. Пероксиды имеют тенденцию дестабилизировать и разлагать GC-концентраты, сокращая в результате срок их хранения.

Приводимый в качестве примера способ совместного применения для генерирования O_2 заключался в следующем. До обработки с помощью GC, жидкий H_2O_2, 10-100 г гранулированного CaO_2 и/или MgO_2 вводили в почву на глубину 15-30 см при расходе 50 кг/га в период вегетации, и/или раствор 10-20 г/л вводили с перемешиванием в заливочные среды или посадочные ямки в почве перед пересадкой. GC наносили путем подкормки в междурядье или орошения обрызгиванием на фотосинтезирующий организм на той же самой посевной площади. Затем, после обработки растения с помощью GC, пероксид медленно высвобождал O_2, усиливая дыхание в сочетании с действиями GC. Может быть осуществлено введение газообразного O_2, главным образом, путем барботирования через жидкие среды до насыщения. Совместное применение O_2-генераторов с композитами гликанов давало синергетический эффект, что приводило к увеличению урожайности.

В условиях, когда содержание O_2 не может быть повышено,

применялись альтернативные способы создания способствующей дыханию среды, в которой фотосинтезирующие организмы подвергаются культивации. Так, например, обработка композитами гликанов проводилась в сочетании с воздействием на культуры ускорителей дыхания либо путем их добавления, либо путем включения в композиты гликанов. Ускорители дыхания выбирали из следующих реагентов: iP, такие как, например, соли фосфорной кислоты, такие как фосфаты аммония, калия и натрия; глифосфаты, такие как Gly-фосфаты, такие как Glc-фосфаты и Man-фосфаты, Glc_2-фосфаты, такие как маннобиоза-фосфаты, сахароза-фосфаты, трегалозо-фосфаты и ксилобиоза-фосфаты; регуляторы роста растений, такие как ауксины, и щавелевоуксусная, аконитовая, лимонная, фумаровая, глутаровая, яблочная и янтарная кислоты. Упомянутые выше кислоты также служат в качестве анионных компонентов координационных соединений, добавляемых при минимальном соотношении анион:катион 10:1.

Материалы и методы

Исследовали ответные реакции при воздействии различных компонентов композитных препаратов на прорастание и начальный рост дигибридной сахарной кукурузы Burpee Sweet Corn cv. Bi-Licious Hybrid. Экспресс-исследования роста всходов проводили с использованием гидропонного культивирования, при которых водные среды стерилизовали и охлаждали. Перед обработкой, семена проверяли с целью исключения слишком крупных, мелких или поврежденных семян. Растения выдерживали в темноте для дыхания при 30°C. Ровно 48 семян высевали в стерильную одноразовую пластиковую чашку Петри диаметром 15 см на кружках из ватманской бумаги, смоченной контрольным питательным веществом или растворами для обработки. Число репликаций равнялось 8 на одну обработку (n=8). Факт прорастания определяли по обнаружению появления первичных корешков у 50% контрольных семян через 30 часов. Растворы для обработки и контрольные растворы готовили путем растворения питательных веществ в деионизированной сверхчистой воде. Вместо сосудов и мешалок из нержавеющей стали использовали пластиковую лабораторную посуду для предотвращения

попадания в растворы Ni^{2+} и других металлов. Взаимные загрязнения одних питательных веществ другими питательными веществами предотвращали путем утилизации пластмассовой лабораторной посуды сразу после использования. Исходные растворы готовили из химически чистых соединений. Исходные водные растворы гликанов для приготовления GC в этом исследовании содержали 1-15% дегликозилированных гликанов Man_n, которые получали путем ацетолиза муки из плода фителефаса в смеси уксусная кислота:уксусный ангидрид:серная кислота 25:25:1. Растворы 0,0001-5% Ca^{2+} и переходных металлов Fe^{2+}, Mn^{2+}, Zn^{2+}, Co^{2+} и Ni^{2+} (обозначаемых сокращенно как Cat) получали путем комплексообразования в смеси 1 мМ цитрата, 5 мМ малата и 1 мМ сукцината, обозначаемых сокращенно CMS. GC применяли при концентрации 10 мкМ Man_n. Соли Ca- и Mn-EDTA представляют собой связанные ионы, обозначаемые сокращенно EDTA. Другие применяемые концентрации составляли 1 мкМ Man_3 и 100 мкМ Man_1. Man_1-CatCMS приготавливали вместе с координационными соединениями переходных металлов$^{2+}$ Cat-CMS для сравнения с Man_1-EDTA и другими подобными. Воду использовали в качестве отрицательного контроля.

Результаты

Как показано в таблице 2, семена кукурузы, обработанные с помощью композита гликана GC, показали высоко значимое ускорение средних значений количества прорастаний (p=0,000) по сравнению с отдельными компонентами, Cat, гликаном, CMS, используемыми в одиночку. Количества прорастаний в случае CMS, гликанов и Cat были такими же, как и в случае воды, и не обнаруживалось никаких различий между водой и Cat. Композит гликана GC со всеми входящими в него компонентами показывал значимое улучшение по сравнению с G-EDTA. Композит гликана GC показывал незначительное значимое улучшение по сравнению с использованием гликана вместе с CaMn-CMS, что указывает на то, что все Cat повышали эффективность GC в большей степени, чем связанные ионы. Таким образом, как Cat, так и CMS в композите гликана GC способствовали прорастанию. Кроме того, композитные препараты, в которых гликаны были заменены на Man_1 или Man_3 с Cat CMS, показывали значимое улучшение прорастания по сравнению с

препаратами Man_1 или Man_3 со связанными ионами и солями EDTA, которые не усиливали дыхание.

Выводы

В случае композита гликана GC со всеми входящими в него компонентами, компоненты оказывали положительное влияние на дыхание и рост, однако, напротив, применяемые раздельно индивидуальные компоненты не давали эффекта. Полный комплект переходных металлов$^{2+}$ в Cat, в частности, в координационных соединениях переходных металлов$^{2+}$ CMS, значимо улучшал характеристики продукта по сравнению с составами со связанными ионами. Выбор подходящих анионных компонентов для координационных соединений переходных металлов$^{2+}$, которые облегчали дыхание, значимо улучшал характеристики композита гликана GC по сравнению с EDTA, которая не обладала таким эффектом. Примечательно, что активность композитов гликанов и Man_3 была на порядок выше активности композита Man_1, что проявлялось прорастанием семян при гораздо более низких дозах обоих композитов, по сравнению с композитом Man_1. Было обнаружено, что применение композитов приводит к значительным улучшениям препаратов Man_1 и Man_3, что является неожиданным результатом исследований. А именно, применение композитов гликана GC с алкиламидными координационными соединениями переходных металлов$^{2+}$ после прорастания семян приводило к накоплению первичных продуктов фотосинтеза, в частности, в окружающей среде с пониженным парциальным давлением кислорода. Например, применение GC-CaMnEDDHA за 1 неделю до сбора листьев салата-латука приводило к большему значению градусов по шкале Брикса, чем в случае композита гликана GC со всеми входящими в него компонентами и контрольных веществ.

Таблица 2. Воздействие компонентов препаратов на прорастание кукурузы показало, что композиты гликанов со всеми входящими в них компонентами имеют наилучшие функциональные характеристики. Статистическая значимость различий между средними показателями проросших семян, выращенных при обработке различными компонентами, по сравнению с обработкой унифицированным композитом гликана составляла приведенные в

таблице значения, где Cat=нехелатированные Ca^{2+}, Fe^{2+}, Mn^{2+}, Zn^{2+}, Co^{2+} и Ni^{2+}; CMS=цитрат, малат, сукцинат; EDTA=соли Ca-EDTA+соли Mn-EDTA; GC=GC Cat-CMS; G-CaMnCMS=гликан и Ca^{2+}-Mn^{2+}-CMS; подсчет=среднее число проросших семян; n=8 для всех репликаций и p=статистическая значимость.

Сравниваемые методы обработки	Подсчет	*p*
GC против гликана	46 против 23	0,000
GC против CMS	46 против 23	0,000
GC против Cat	46 против 23	0,000
Cat против воды	23 против 23	0,601
GC против G-EDTA	46 против 36	0,043
GC против G-CaMnCMS	46 против 38	0,054
Man_1CatCMS против Man_1EDTA	39 против 27	0,025
Man_3CatCMS против Man_3EDTA	45 против 29	0,016

Консерванты для жидких концентратов

Часто является выгодным производить продукты композита гликана в форме 10 ppm - 30% концентратов, которые можно транспортировать в сухой или жидкой форме и, кроме того, хранить в холодных, сухих, темных условиях, но для органических соединений, которые входят в состав композитов гликанов, является присущем то, что комплекс потреблялся различными и разнообразными микробами, а также клетками растений. Поэтому, должны приниматься меры для предохранения композиций от порчи, особенно водных продуктов. В случае хранения, особенно жидких композиций, в состав могут быть включены подходящие консерванты для повышения стабильности продуктов. Выпускаемые промышленностью консерванты включают биоциды и гермициды, такие как, например, пероксиды, гипохлориты натрия, отбеливающие вещества, кислоты, основания, окислители, высвобождающие формальдегид консерванты, такие как 1,3-диметилол-5,5-диметилгидантоин, кватерний-15, бронопол, диазолидинил мочевина, Na-гидроксиметилглицинат, серебро, ацетат меди, перманганаты, динитроморфолины, фенольные соединения, такие как 4-хлор-3-метилфенол и 2-фенилфенол, тиазолиноны и предпочтительные изотиазолиноны (IT), такие как бензоизотиазолиноны (BIT),

метилсхлоризотиазолиноны и метилизотиазолиноны (MIT). IT представляет собой растительный противомикробный препарат, применяемый в концентрациях в диапазоне 1-800 ppm. Консерванты рекомендуется для введения в состав жидких концентратов композитов гликана в диапазоне концентраций, указанных на этикетках, от 1 ppm до 1%. Например, BIT был безопасным и эффективным при содержании его в жидких концентратах в диапазоне от 50 до 750 ppm, предпочтительно, от 100 до 300 ppm. Таким образом, жидкий препарат композита гликана может быть смешан с любым противомикробным средством, и эти средства должны быть выбраны из растительных консервантов в соответствии с раскрытыми в изобретении вариантами осуществления. В продукте композита гликана, представляющего собой концентрат композиции с содержанием от 10 ppm до 30% композита гликана для разбавления перед нанесением на культуры фотосинтезирующих организмов для повышения их урожайности, подходящий концентрат включает один или более дегликозилированных гликанов в диапазоне концентраций от 1 ppm до 20% и одно или более координационных соединений переходных металлов$^{2+}$ в диапазоне концентраций от 1 ppm до 10% и консервант в диапазоне концентраций от 50 ppm до 1% по массе.

Взятый в качестве примера консервант сохраняет активность композитов гликанов

Сравнивали влияние консервантов на активность композитов гликанов в качестве регуляторов роста растений. В экспериментах количественно оценивали рост корней. Результаты показали, что активность препаратов с консервантами сохранялась после хранения в течение одного месяца. В отличие от этого, препараты без консервантов теряли свою активность.

Материалы и методы

Исследовали рост корней на ранней стадии всходов листовой свеклы (Beta vulgaris subspecies cicla L., cultivar "Fordhook® Giant") на ответную реакцию при обработке композитами гликанов (GC), дополненных консервантом BIT. В предварительных экспериментах были исключены консерванты, которые имели узкий спектр противомикробного действия, не подходили для

использования в пищевых продуктах или которые были токсичными для растений в диапазоне противомикробных доз. Корни всходов листовой свеклы демонстрировали ответные реакции по увеличению роста в длину в течение недели нанесения GC и это согласовывалось с увеличениями массы. Был выбран разветвленный N-связанный гликан, 100 ppm дегликозилированного $Man_3GlcNAc_2$, для получения смеси композита гликана путем перемешивания в воде. Кроме того, композит гликана приготавливали путем перемешивания анионного компонента 5 ммМ яблочной кислоты в водном растворе гликана с водорастворимыми нитратными солями металла$^{2+}$, что давало в результате 5 мМ координационного соединения малата переходного металла$^{2+}$ с содержанием 1-5 ppm Ca^{2+} и переходных металлов 1-3 ppm Fe^{2+}, 0,1-0,5 ppm Mn^{2+}, 0,2-1 ppm Zn^{2+}, 0,01-0,1 ppb Co^{2+} и 0,001-0,01 ppb Ni^{2+}. Из IT противомикробных веществ выбирали консервант Proxel™ GXL и использовали его при приготовлении продуктов жидких концентратов от 1 ppm до 30% для хранения в диапазоне концентраций консерванта 100-200 ppm. Препараты хранили в течение месяца при 35°C перед испытанием. Концентрированные препараты разбавляли в необходимом объеме воды непосредственно перед обработкой всходов. В растворы вводили химически чистые соединения других требуемых элементов.

Экспресс-исследования роста корней основывались на модифицированных методах упомянутого выше гидропонного культивирования на увлажненных кружках из ватманской бумаги Whatman 598 Seed Culture, и растворы для обработки и водные среды не стерилизовали перед применением. Массы корней в миллиграммах определяли путем взвешивания на поверенных цифровых весах Mettler. Используемая в изобретении терминология обозначает неприменение или применение питательных веществ следующим образом: GC=10 мкМ композита гликана без IT, GC-IT=GC с IT; Man_1=100 мкМ Man_1-GC без IT, Man_1-IT=Man_1-GC с IT; MG=375 мМ метил-D-Glc_1-GC без IT, MG-IT=MG с IT; Man_3=1 мкМ Man_3-GC без IT, Man_3-IT=Man_3-GC с IT.

Консерванты сохраняют активность находящихся на хранении препаратов

При обработке после прорастания всходов листовой свеклы композитом гликана без консерванта, его активность была в два раза меньше активности того же самого препарата с IT. Результаты в виде средних значений±стандартная погрешность (SE) представлены в таблице 3. Удвоение (2X) концентрации препаратов композита без IT приводило к более высокой массе корней по сравнению с контролем, но при 20% снижении массы по сравнению 1X концентрациями композита гликана с IT. Препараты без консерванта теряли, по меньшей мере, половину их активности после 1 месяца хранения. Сохранение исходной активности препаратов GC с консервантами демонстрирует четко выраженное улучшение всех продуктов, которые должны храниться до их продажи конечным потребителям и до их применения.

Таблица 3. Влияние композитов, содержащих или не содержащих консервант IT, на рост корней всходов листовой свеклы характеризуется в таблице массой корней. Препараты исследовали после 1 месяца хранения, и препараты с IT демонстрировали более высокие результаты, чем препараты без IT. Средние величины массы корней в случае препаратов без IT были эквивалентны результатам в случае воды в качестве контроля. Величины представляют собой среднее значения измеренной в миллиграммах (мг) массы корней±стандартная погрешность (SE). Сокращения: GC=GC без IT, GC-IT=GC с IT; и так далее. Man_1=Man_1-GC; MG=метил-D-Glc_1-GC; Man_3=Man_3-GC.

Обработка	Среднее значение ± SE (мг)
GC-IT	12 ± 0,3
Man_3-IT	12 ± 0,4
Man_1-IT	11 ± 0,5
MG-IT	11 ± 0,6
2X GC	10 ± 0,5
2X Man_3	10 ± 0,6
GC	8 ± 0,4
Man_3	8 ± 0,5

Man_1	8 ± 0,6
MG	8 ± 0,6
Вода	8 ± 0,5

В примере, изображенном на фигуре 1, клетка растения подвергалась воздействию раствора композита гликана, который доставлялся внутрь клетки. В соответствии с аффинностью и специфичностью связывания гликопротеина, композит гликана вытеснял первичные продукты фотосинтеза из хранилища, делая их доступными для процессов дыхания, роста и прорастания. Этот перенаправленный поток энергии приводил в результате к согласованному более быстрому прорастанию, чем в случае с контрольными питательными веществами, наряду с другими важными характеристиками.

Подходящий метод приготовления композита гликана заключается в следующем. В конкретных вариантах осуществления, композит гликана приготавливали с одним или более из упомянутых выше переходных металлов$^{2+}$. Для приготовления координационного соединения переходного металла$^{2+}$, один или более соответствующих анионных компонентов, таких как, например, 0,1-5 мМ лимонной кислоты, яблочной кислоты, янтарной кислоты и/или щавелевоуксусной кислоты, добавляли и растворяли в воде, и затем ppb - ppm количества подходящих компонентов металлов$^{2+}$ компонентов координационных соединений переходных металлов$^{2+}$ перемешивали для растворения в водном препарате. Таким образом, например, добавленными компонентами металлов$^{2+}$ являлись 1-10 ppm Ca^{2+} и 0,1-1 ppm Mn^{2+}, один или более из 1-10 ppm Mg^{2+}, 1-3 ppm Fe^{2+} и 0,2-1 ppm Zn^{2+}, и 0,01-0,1 ppb Co^{2+} и 0,001-0,01 ppb Ni^{2+}. Для образования соответствующих координационных соединений переходных металлов$^{2+}$ необходимо обеспечивать соответствующие соотношения катион переходного металла$^{2+}$:анион, по меньшей мере, 1:10, и, предпочтительно, 1:25. Приготовление композита гликана заканчивалось добавлением координационных соединений переходных металлов$^{2+}$ к количеству гликана от 1 мкМ до 500 мМ. Препараты, которые должны были храниться в течение более одного дня перед их нанесением на растения, включали указанные на этикетке

количества консерванта широкого спектра действия, выбранного из IT, BIT, MIT, гидантоина и других подобных консервантов. Метод может также включать стадию добавления одного или более поверхностно-активных веществ/эмульгаторов сельскохозяйственного назначения и/или других агрономических добавок/вспомогательных веществ в указанных на этикетке количествах, которые позволяют достигать, по меньшей мере, критических концентраций мицеллообразования, в частности, для некорневого внесения.

Подходящие поверхностно-активные вещества и эмульгаторы включают анионные, катионные, неионные и цвиттер-ионные поверхностно-активные вещества, например, амины, этоксилаты алкилфенолов, фосфатные эфиры, полиалкиленоксиды, полиалкиленгликоли, эфиры полиоксиэтилена (POE) с жирными кислотами, POE с жирными диглицеридами, POE полимеры, POP полимеры, PEG полимеры, белковые поверхностно-активные вещества, эфиры сорбита с жирными кислотами, этоксилаты спиртов, этоксилаты эфиров сорбита с жирными кислотами, этоксилированные алкиламины, четвертичные амины, этоксилированные эфиры сорбита, замещенные полисахариды, алкилполиглюкозиды (APG), APG-цитраты, алкилгликозиды, такие как метилглюкозиды, алкилманнозиды, метилманнозиды, этилацетоацетаты, N-ацетилглюкозамины, меглумины, глюкамиды, диметилглюкамины, сополимеры, силоксаны, амины из говяжьего и бараньего жира и их смеси. При нанесении композитов гликанов на листья, препарат может дополнительно включать один или более водных поверхностно-активных веществ, и нанесение полученной смеси на листву растения осуществляют путем разбрызгивания, аэрозольного орошения, мелкокапельного опрыскивания или электростатическим методом в количестве приблизительно от 1 до 100 галлонов (от 3,78 до 378 литров) на акр (4047 $м^2$), предпочтительно, от 10 до 80 галлонов (от 37,8 до 302,8 литров) на акр (4047 $м^2$).

Смеси GC с питательными веществами поддерживали жизнеспособность растений, способствовали развитию корневых систем, усиливали рост растения, улучшали внешний вид цветочных растений, способствовали плодоношению и улучшали вкус и запах плодов, обеспечивая воздействие, которое было особенно важным

для почв и воды с дефицитом питательных веществ. Главные первичные элементы включают N-P-K. Главные вторичные питательные элементы включают Ca, Mg и S. Главные питательные микроэлементы включают B, Cl, Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Si, Na и Zn. Предпочтительные питательные вещества выбирают не для того, чтобы исключить другие элементы, ионы или соли, и, в зависимости от ситуации, они могут быть доступны в почве и в воде, в частности, в таком изобилии, при котором подкормка для повышения урожайности не нужна, поэтому, подкормку питательными веществами применяют в соответствии с нормами, согласованными с органами государственного регулирования и контроля в сельском хозяйстве, следуя инструкциям на этикетках. Подходящие источники включают обычно хорошо известные соли и минералы. Например, самый предпочтительный выбор питательных микроэлементов для композиций может включать 0,5-5 ppm хелатированных Fe и/или Zn и нанесение подходящего количества полученной смеси на одно или более растений.

Фосфорсодержащее питательное вещество для растений может быть получено из одного или более из следующих источников: iP, фосфорная руда, фосфорные кислоты, фосфаты, фосфиты, пирофосфаты, Steric P, гуано, навоз, экстракты из морских водорослей, птичий помет, отходы рыбоводства, птицеводства и животноводства и другие подобные источники. Органические источники P как правило являются слишком дорогими для применения на полях с концентрациями в диапазоне 1-20% iP, однако, при концентрациях ниже 1% они часто оказываются эффективными в качестве ускорителей дыхания. Органические источники P, включавшие, например, глицерофосфаты и упомянутые выше фосфаты сахаров использовали в диапазоне концентраций от 0,1 ppm до 800 ppt.

Азот может быть получен из одного или более из следующих источников: нитратный N, такой как, азотная кислота и ее соли, аммонийный N, такой как аммиак, мочевино-аммониевый нитрат (UAN), нитрат аммония, сульфат аммония; N мочевины, такой как метиленмочевина, формальдегидмочевина, мочевина, мочевина с низким и, предпочтительно, предельно низким содержанием

карбамилмочевины; N аминов/амидов/амино, таких как аланин, аргинин, аспарагин, аспартат, цистеин, глутамат, глутамин, глицин, орнитин, пролин, селеноцистеин, таурин, тирозин, гистидин, изолейцин, лейцин, лизин, метионин, фенилаланин, треонин, триптофан, валин; соли, такие как глутамат натрия или калия; производные; смеси и другие подобные соединения; и смеси аминокислот; белки, такие как белки из глютенов, казеинов, рыбы и крови; гексамины и их комбинации. Питательные элементы метаболизировались до всех биохимических компонентов, компонентов роста, репродуктивных и структурных компонентов фотосинтезирующих организмов.

Применение композитов гликанов предоставляет возможность восполнить дефицит питательных веществ в растениях путем использования баковых смесей или путем применения препаратов композитов гликанов с выбранными добавками. Количества питательных веществ для растений наносили в соответствии с приведенными на этикетке данными гарантийного анализа, проводимого органами управления, при известных нормах расхода. Подкормка включала стадии растворения компонентов питательных веществ для растений в водном растворе с получением в результате смеси, включающей композиты гликанов. Например, в конкретных вариантах осуществления, в композиты гликанов добавляли 100-2000 ppm N, 50-250 ppm P, 50-2000 ppm K, 1-100 ppm Ca, 1-10 ppm Fe, 0,5-6 ppm Mn и/или 0,5-5 ppm Zn. Различные препараты композитов гликана могут быть отнесены к биостимуляторам растений, которые могут повышать эффективность использования питательных веществ растениями, повышать устойчивость растений к абиотическому стрессу и увеличивать урожайность. Биостимуляторы обычно включают природные продукты, такие как, например, растения, водоросли, метаболиты процесса ферментации и метаболиты животных организмов, гуматы, продукты жизнедеятельности микробов, биохимические продукты и другие подобные природные продукты. Другие препараты композитов гликана могут быть отнесены к элиситорам, которые обычно включают природные продукты, такие как, например, водоросли, метаболиты процесса ферментации и метаболиты животных организмов, белки, ферменты, продукты

жизнедеятельности микробов и другие подобные природные продукты.

Раскрытые в изобретении варианты осуществления применительно к сельскохозяйственным культурам представляют собой композиты гликанов, приготовленные в форме композиций, соединения которых сами по себе служат в качестве средств для контроля фотосинтезирующих организмов, в том числе живых фотосинтезирующих эукариотов, и, в значительной мере, сельскохозяйственных архепластидовых растений. В связи с этим, композит гликана может быть соответствующим образом приготовлен с агрохимикатами и использован в форме водных композиций, которые способствуют росту фотосинтезирующих организмов, в частности, выращиваемых цветковых растений. Раскрытые в изобретении способы могут быть применены для безопасного усиления сбалансированного метаболизма экзогенных компонентов, которые способствуют повышению урожайности фотосинтезирующих организмов. Вместе с тем одновременно, они могут представлять собой способы применения композиций композита гликана для приносящих положительный эффект обработок фотосинтезирующих организмов, которые, кроме того, могут быть проведены для усиления нормального роста и повышения качества сельскохозяйственных культур.

Не приводя в качестве подтверждения какую-либо теорию, автор изобретения, тем не менее, предполагает, что композиты гликанов по раскрытым в изобретении вариантам осуществления действуют в соответствии со специфическим механизмом "замка и ключа". Гликан с подходящим терминальным лигандом проявляет высокую аффинность связывания к специфическому рецептивному гликопротеину. Замком является гликопротеин, а ключом является терминальный лиганд. "Переключателями" гликопротеина-замка являются внутренние участки структур кальция и марганца. При открытии замка гликановым ключом происходит вытеснение первичных продуктов фотосинтеза с целью их накопления или переноса для участия в процессе дыхательного метаболизма, и, в результате, открывается возможность для выбора ускорителей дыхания в анионных компонентах координационного соединения переходного металла$^{2+}$. В дневное время корни потребляют эти первичные

продукты фотосинтеза. В результате дыхания корней образуется углекислый газ, часть которого (от 10% до 20%) переносится вверх в побеги, в силу чего улучшаются результаты фотосинтетической фиксации углерода. Таким образом, композит гликана может применяться для снижения энергетических потерь при фотодыхании путем проведения этих обработок фотосинтезирующих организмов с воздействием на нектар сока, который модулирует качество сахаристости, измеряемое по шкале Брикса. В частности, композит гликана может оказывать положительное воздействие на урожайность, когда, например, растения выращивают в условиях окружающей среды с фотореспираторными стрессами, таких как интенсивные солнечные лучи, засуха и жара. Кроме того, в вариантах осуществления предлагаются системы композита гликана для регулирования накопления первичных продуктов фотосинтеза путем снижения скорости дыхания с целью улучшения органолептических и питательных характеристик, воспринимаемых потребляющими сельскохозяйственную продукцию людьми, домашним скотом, домашней птицей, а также собираемого насекомыми-опылителями нектара.

В соответствии с раскрытыми в изобретении вариантами осуществления, предлагается новая система регуляции роста растений, которая улучшает фотосинтезирующее выделение для запуска накопления фотосинтезирующими организмами первичных продуктов фотосинтеза. Это инициируется, например, путем создания новых воздействий на сельскохозяйственные культуры композитов гликанов, которые могут быть нанесены на фотосинтезирующие организмы. Композиты гликанов могут состоять из разветвленных гликанов с соединениями переходных металлов$^{2+}$ с полидентатными анионами. Предпочтительными анионами этого варианта осуществления являются алкиламиды, выбранные из солей EDTA, EDDHA, HeEDTA, DTPA, HBED, MGDA, GLDA и других подобных кислот. Кроме того, могут быть созданы обедненные по кислороду окружающие среды при пониженном парциальном давлении кислорода в диапазоне 0-10% O_2 с помощью физических методов снижения скорости дыхания, таких как заливка корней ирригационной водой, выдерживание растений или их частей в атмосфере азота или

повышение концентраций CO_2. В качестве варианта, снижающие скорость дыхания вещества могут быть выбраны из подходящих регуляторов роста растений, совместно применяемых в соответствии с известными разрешенными в сельском хозяйстве методами, например, регуляторы роста растений в дозах 1-750 ppm выбирали из различных подходящих цитокининов, салициловых кислот и/или гибереллинов и их производных и других подобных соединений.

Фотосинтезирующие организмы дают соответствующую ответную реакцию на применение компонентов композитов гликана, предпочтительно, соответствующим образом приготовленных и превращенных в активные препараты, благодаря чему они способствуют росту и повышению качества фотосинтезирующих организмов, а также обеспечивают совокупность положительных физиологических воздействий, что повышает их рыночную привлекательность.

В соответствии с раскрытыми в изобретении вариантами осуществления, состоящие из компонентов комплексы по вариантам осуществления могут быть нанесены раздельно, последовательно или одновременно. Более того, особенно в условиях физиологического стресса, в результате воздействия композитов гликанов на нектар сока фотосинтезирующего организма повышалась урожайность за счет увеличения потока первичных продуктов фотосинтеза в направлении протекания респираторного метаболизма в фотосинтезирующих организмах в соответствии с упомянутым выше механизмом "замка и ключа" по раскрытым в изобретении вариантам осуществления.

В конкретных вариантах осуществления, продукты концентратов композитов гликана в композициях, включающих, по меньшей мере, дегликозилированные гликаны в диапазоне концентраций от 0,1 ppm до 30% и одно или более координационных соединений переходных металлов$^{2+}$ в диапазоне концентраций от 0,1 ppm до 20%, могут быть легко приготовлены для применения путем растворения количества композитов гликанов в предпочтительном носителе воде. Альтернативные носители включают, например, растительные и минеральные масла, алкилацетоацетаты или алифатические спирты. Поэтому, для сельхозпроизводителя является удобным смешать готовый раствор, содержащий композиты гликанов, с водой, которая

является предпочтительным носителем для конечного разбавления. В большинстве случаев, перемешивание и нагревание при 25-80° облегчает растворение сухого продукта в носителе. Композит гликана может применяться в аграрных системах на водной основе, таких как гидропонное и водное культивирование, путем дозированного введения с помощью насосов в среду, путем погружения корней в разбавленные композиты гликанов или путем некорневой обработки.

Используемые препараты могут включать любые из большого разнообразия применяемых в агротехнике добавок, вспомогательных веществ или других удовлетворяющих агротехническим требованиям ингредиентов и компонентов (далее называемые "добавками"), которые могут улучшать или, по меньшей мере, не ухудшать положительные воздействия композита гликана при указанных на этикетке его норм расхода при нанесении. Общепринятые добавки для агротехнического применения периодически вносятся в перечень Управления по охране окружающей среды США. В частности, композиции для некорневого применения могут содержать вещества-распределители, присутствующие в количестве, достаточном для дополнительного промотирования смачивания, эмульгирования, равномерного распределения и проникновения активных веществ. Веществами-распределителями обычно являются органические алканы, алкены или полидиметилсилоксаны, которые обеспечивают при обработке покрывающее действие на филлоплане. Подходящие вещества-распределители включают парафиновые масла и упомянутые выше поверхностно-активные вещества. Пенетранты включают, например, алкилацетоацетаты, додецилсульфат натрия, формамиды, диметилсульфоксид и спирты.

Приведенные в изобретении варианты осуществления могут применяться при смешении или приготовлении баковой смеси с различными средствами для обработки растений, такими как удовлетворяющие агротехническим требованиям пестициды, инсектициды, гербициды, регуляторы роста растений, фунгициды, гермициды, биоциды, элиситоры, биостимуляторы, антагонисты, антитранспиранты, синергисты, системные препараты, поверхностно-

активные вещества, вещества-распределители, клейкие заполнители, витамины, минералы, соли, растворители, генетические препараты, биопрепараты и другие подобные средства. Гербициды, действие которых основано на метаболизме аммиака, например, глюфосинаты, Ignite®, Rely® и Liberty®, становится более безопасными в использовании в результате применения композитов гликанов, снижающих фитотоксичность в отношении гербицид-резистентных генно-модифицированных сельскохозяйственных культур, при нанесении с указанными на этикетке нормами расхода.

Примеры подходящих добавок и вспомогательных веществ включают минералы, такие как известняк, железные опилки и другие подобные вещества; соли, такие как нитрат аммония, сульфат аммония, фосфат калия, перманганат кальция, фосфаты кальция, ацетаты кальция, аконитаты кальция, цитраты кальция, цитраты фосфаты кальция, фумараты кальция, малат кальция, малонат кальция, малеат кальция, малат фосфат кальция, глюконаты кальция, глутараты кальция, CaO_2, сукцинаты кальция, хелаты кальция, нитрат кальция, глицерофосфат кальция, фосфаты марганца, ацетаты марганца, цитраты марганца, фумараты марганца, глутараты марганца, родохрозит, карбонаты марганца, оксиды марганца, MgO_2, малат марганца, малонат марганца, малеат марганца, сукцинаты марганца, хелаты марганца и другие подобные соли; сорастворители, такие как спирты, кетоны, масла, липиды, вода и другие подобные сорастворители; генетически модифицированные организмы и генетические материалы, такие как Bt, гены, последовательности, РНК, ДНК, плазмиды, геномы и другие подобные организмы и материалы; биоорганизмы, такие как микробы, дрожжи, бактерии, вирусы, векторы и другие подобные организмы; и окрашивающие вещества, красители и пигменты, такие как аннатто, метиленовые красители, кобальтовая синь и индикан. Другие компоненты, которые могут быть добавлены в композиции, включают структурообразователи почвы, антибиотики, регуляторы роста растений, генно-модифицированные продукты, геннотерапии и другие подобные компоненты. Среди регуляторов роста растений, которые могут быть добавлены в препараты по настоящему

изобретению, необходимо упомянуть ауксины, брассинолиды, цитокинины, гибереллины, салицилаты, бензиладенин, аминокислоты, бензоаты, карбоновые кислоты, витамины, углеводы, гербициды, такие как, фосфонометилглицины, галогенсульфуроналкилы, селективные гербициды, такие как сетоксидимы и сульфонилмочевины, их соли, эфиры, фосфаты, гидраты и производные, и генетические композиции.

Технология обработки композитом гликана предназначена для применения на сельскохозяйственных культурах, но без ограничения, в темных и затемненных условиях в течение периодов максимального дыхания растений, а также в условиях воздействия прямых солнечных лучей. Обычно, композиты гликанов легко наносятся непосредственно на всходы и/или корни и/или семена, и/или их части, включая кутикулу, кожицу, цветок, плод, сок, нектар, кору, ствол, листья, хвою, листовую пластинку, филлоплану, сердцевину дерева, трихому, корневой волосок, стержневой корень, семядолю, шишку и другие подобные объекты. Концентрация композитов гликанов в препаратах, наносимых на фотосинтезирующие организмы, должна, как правило, составлять приблизительно от 1 ppb до 1% и, более предпочтительно, приблизительно от 10 ppb до 500 ppm. Для конкретных применений, концентрация в месте нанесения может быть ниже в случае корней, чем в случае всходов, так, например, в случае нанесения на корни, концентрации составляют 1 ppb - 300 ppm. Композиты гликанов могут быть нанесены на среду укоренения и затем пролиты водой или могут сначала быть разбавлены в водном носителе и затем нанесены на среду. На листве обработку обычно проводят путем применения аэрозольного орошения, образования тумана, распыления, капельного орошения, струйного орошения, погружения, нанесения слоя покрытия или совместного распыления и пропитки при концентрациях композита гликана от 1 ppb до 1%. При разбавлении в водном носителе, полученный разбавленный композит гликана наносят на фотосинтезирующий организм в количестве приблизительно от 1 до 500 галлонов/акр (от 3,78 до 1892 литра/4047 $м^2$).

Далее приводятся примеры для иллюстрации раскрытых в

изобретении вариантов осуществления, и их ни в коем случае не следует рассматривать в качестве ограничений для настоящего изобретения. В этих примерах, очищенную воду получали методом обратного осмоса, компоненты координационного соединения переходного металла$^{2+}$ и поверхностно-активные вещества приобретали в фирме Brandt. Условные сокращенные обозначения, используемые в следующих далее примерах, определяются следующим образом: "°" обозначает °C; "Sil" обозначает смесь органосилоксан/сополимер; "12-26-26" обозначает Brandt 12-26-26 Micro, N-P-K с B, Cu, Fe, Mn, Mo и Zn; "αManda" обозначает метил-α-D-Man_n, n=1-3; "GG" обозначает комбинации разветвленных O-связанных $Gal_{1-12}Man_2$ из частично гидролизованной гуаровой камеди; "Ag" обозначает $GlcNAc_{1-3}$; "Ethan" обозначает разветвленные $Man_3GlcNAc_2$ (фигура 2); "Cat" обозначает смесь растворимых 1 ppm Fe^{2+}, 0,5 ppm Mn^{2+}, 0,5 ppm Zn^{2+}, 0,01 ppb Co^{2+} и 0,01 ppb Ni^{2+}; "CMS" обозначает координационное соединение переходного металла$^{2+}$ с 0,1-5 мМ цитрата, малата, малеата и/или сукцината; "IT" обозначает изотиазолиноновые консерванты; "$MnCO_3$" обозначает карбонат марганца; "AMS" обозначает сульфат аммония; "MKP" обозначает монокалийфосфат; "DKP" обозначает дикалийфосфат; "MAP" обозначает моноаммонийфосфат; "DAP" обозначает диаммонийфосфат; "NH_4OH" обозначает гидроксид аммония; "KOH" обозначает гидроксид калия; "$Ca(OH)_2$" обозначает гидроксид кальция; "л" обозначает литр; "мл" обозначает миллилитр; "мг" обозначает миллиграмм; "г" обозначает грамм; "кг" обозначает килограмм; "мМ" обозначает миллимоль; "питательные микроэлементы" обозначают следовые количества растворимых B, Ca, Co, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Zn; и KOH, $Ca(OH)_2$, NH_4OH, $MnCO_3$, MAP, DAP, MKP и DKP являются питательными веществами для растений и буферными веществами.

Далее приводится примеры конкретных препаратов, которые могут быть успешно использованы в способах для обработки фотосинтезирующих организмов, таких как растения, и для усиления роста растений. Приведенные далее примеры предназначены для того, чтобы облегчить специалистам в этой области понимание

настоящего изобретения, и они не представляют исчерпывающий перечень препаратов, которые входят в объем раскрытых вариантов осуществления.

ПРИМЕР 1

Препарат композита гликана для корневого нанесения

Ингредиент	Диапазон концентраций г/л	Предпочтительная концентрация г/л
Ethan	От 10 ppb до 1 ppm	100 ppb
Аконитовая кислота	0,001-10	0,05
	Диапазон концентраций ppm	Предпочтительная концентрация ppm
Ca^{2+}	1-10	5
Cat	0,01-10	3

Этот препарат может быть дополнительно дополнен компонентами координационных соединений переходных металлов$^{2+}$, выбранных из цитратов, фумаратов, глутаратов, малатов, оксалоацетатов, сукцинатов и Mg.

Композиты гликанов для корневого нанесения растворяли в 1 л воды при перемешивании при комнатной температуре от 25 до 35°C и доводили величину pH до 5-7 путем титрования с помощью KOH. Приготовленный препарат наносили как можно ближе к корням либо в междурядье, либо путем капельного орошения, при норме расхода от 50 до 450 галлонов/акр (от 189 до 1703 литров/4047 м^2). При использовании полива, обработку проводили путем пролива почвы в направлении корней с целью повышения качества и количества первичных продуктов фотосинтеза.

ПРИМЕР 2

Препарат композита гликана для некорневого нанесения

Ингредиент	Диапазон концентраций г/л	Предпочтительная концентрация г/л
Яблочная кислота	0,7-50	3,5

GG	0,001-10	1
AMS	0,6-3	3
Sil	0,3-3	0,8
	Диапазон концентраций ppm	Предпочтительная концентрация ppm
Ca^{2+}	1-100	1-5
Cat	0,1-6	1-3

Ca^{2+} и Cat растворяли вместе с яблочной кислотой в 1 литре воды. Добавляли другие ингредиенты, растворяя последовательно каждый в отдельности, и величину pH раствора доводили до 5-5,5 путем титрования с помощью DKP/MAP, в случае необходимости. Координационные соединения переходных металлов$^{2+}$ выбирали из 0,01 ppb Ni и Co, и координационные соединения переходных металлов$^{2+}$ могут включать в количестве от ppm до ppt аконитаты, цитраты, фумараты, глутараты, оксалоацетаты и/или сукцинаты. Нанесение на листья путем обрызгивания проводили до появления на них блеска при норме расхода приблизительно 75-100 галлонов/акр (284-378 литров/4047 м^2), что давало в результате увеличение первичных продуктов фотосинтеза, повышение качества и урожайности.

ПРИМЕР 3

Препарат композита гликана для нанесения на поля и на цветущие растения

	Предпочтительная концентрация	Верхний предел концентраций
Ингредиент	г/л	г/л
12-26-26	0,3	10
Ag	0,1	0,5
Ca^{2+}	0,005	1
Янтарная кислота	0,7	5,0

Препарат для нанесения на поля и на цветущие растения
Компоненты предварительно смешивали в форме сухих концентратов для приготовления набора, в виде которого сухие компоненты хранили и позже растворяли в воде.
Для приготовления смеси, компоненты перемешивали в 1 л воды до их полного растворения. Раствор наносили непосредственно на корни. Подкормку с помощью 0,5-3 г/л CMR или других аграрных увлажняющих средств проводили путем некорневого нанесения.
Препарат для нанесения на поля предпочтительно наносили путем орошения листьев всходов растений при норме расхода от 50 до 100 галлонов/акр (от 189 до 378 литров/4047 $м^2$) для увеличения первичных продуктов фотосинтеза, повышения качества и урожайности.
Кроме того, в этот раствор могут быть добавлены координационные соединения переходных металлов$^{2+}$, выбранных из Ni, Co; аконитовая, лимонная, фумаровая, глутаровая, яблочная и щавелевоуксусная кислоты; EDTA, EDDHA, HeEDTA, DTPA, HBED, MGDA, GLDA; Mg и другие подобные компоненты.

ПРИМЕР 4

Концентрат для некорневого нанесения

Ингредиент	Диапазон концентраций г/л	Предпочтительная концентрация г/л
αManda	1-20	5-15
Cat	1-10	5
Ca^{2+}	0,001-5	0,03
Лимонная кислота	1-50	5-15
MKP/DAP, pH 5	1-25	5-15
Консервант BIT	0,01-0,8	0,1

Кроме того, в этот препарат могут быть добавлены анионные

компоненты координационных соединений переходных металлов$^{2+}$, такие как, например, ускорители дыхания, выбранные из аконитовой, фумаровой, глутаровой, яблочной, щавелевоуксусной, янтарной кислот и других подобных соединений. В качестве варианта, для накопления первичных продуктов фотосинтеза, анионные компоненты выбирали из полидентатных хелатообразующих веществ, таких как EDTA, EDDHA, HeEDTA, DTPA, HBED, MGDA, GLDA и другие подобные вещества.

Все компоненты смешивали до гомогенности в водном растворе при быстром перемешивании до полного растворения и доводили величину pH до 5-5,5 с помощью MKP/DAP. Для некорневого нанесения, в этот препарат добавляли 0,05% Sil для обработки всходов при норме расхода 20-100 галлонов/акр (75,7-378 литров/4047 м^2) для усиления образования первичных продуктов фотосинтеза и дыхания у сельскохозяйственных культур.

Эксперимент по некорневому внесению в этом примере проводили следующим образом. Отбирали подходящую рассаду болгарского перца и содержали в пластиковых контейнерах с объемом около 2 литров, в каждом из которых рассада была разделена на две равные группы, подвергаемой обработке препаратом композита гликана и подвергаемой обработке контрольными питательными веществами. Композит гликана из этого примера разбавляли до 1% водой и наносили на всходы в подвергаемой обработке группе путем некорневого орошения, в то время как всходы в контрольной группе подвергали орошению водным раствором минеральных питательных веществ с той же концентрацией. С точки зрения всех других параметров, контрольную и подвергаемую обработке группы выращивали рядом друг с другом в одинаковых полевых условиях. При сборе урожая, в подвергнутой обработке группе урожай плодов болгарского перца в среднем превышал на 35% урожай в контрольной группе, что подтверждалось статистической значимостью p=0,001 при n=30. Кроме того, в подвергнутой обработке группе отсутствовали плоды с солнечным ожогом, в то время как в контрольной группе потери плодов от солнечного ожога составляли 1-5%, что снижало их рыночную реализацию вследствие непривлекательного вида. Таким

образом, усиление потока первичных продуктов фотосинтеза приводило к повышению товарного урожая, обусловленного улучшением эстетического вида конечного продукта в результате обработки препаратом композита гликана.

Регулирование потока первичных продуктов фотосинтеза с помощью композитов гликанов, состоящих из αManda, кроме того, осуществлялась путем необязательного совместного внесения ускорителя дыхания при норме расхода 10-100 г CaO_2 в почву около корней для повышения качества и урожайности.

ПРИМЕР 5

Пример регулятора роста растений (PGR) для некорневого применения

Компонент	Диапазон концентраций %	Предпочтительная концентрация %
GG	0,01-10	1
Яблочная кислота: малеиновый ангидрид	0,7-50	1
Вода	5-80	53
KOH	pH 5-7	pH 5,5
Cat-малат	0,01-1	0,1
Ca-глутарат	0,01-0,3	0,1
Sil	0,3-3	0,8
Инструкции по смешению		
Для лизиса в яблочной кислоте, в 50% водный раствор смеси яблочная кислота:малеиновый ангидрид 1:1 добавляют GG и 1% серную кислоту и нагревают до 70°C в течение 8-24 часов. Добавляют оставшиеся сухие кристаллы в 0,5 л воды при перемешивании, и после полного растворения добавляют раствор жидкости в водный раствор при быстром перемешивании, например, перемешивании с помощью мешалки. Доводят суммарный объем до 1 л путем добавления воды. Доводят до требуемой		

величины pH с помощью NH_4OH или KOH.
После смешения компонентов, их разбавляют водой, если это необходимо, и наносят на листву всходов растений методом опрыскивания, предпочтительно, при норме расхода 10-100 галлонов/акр (37,8-378 литров/4047 $м^2$). В этот раствор могут быть добавлены анионные компоненты координационных соединений переходных металлов$^{2+}$, выбранных из аконитатов, цитратов, фумаратов, глутаратов, малатов, оксалоацетатов, сукцинатов и хелатообразующих полидентатных алкиламидов, для увеличения первичных продуктов фотосинтеза, повышение качества и урожайности.

ПРИМЕР 6

Система для ускорения всхожести

Ингредиент	Диапазон концентраций г/л	Предпочтительные концентрации
Глутаровая кислота	0,07-10	3
Ethan	10 ppb - 1 ppm	100 ppb
KOH	pH 5-7,5	pH 5,5
Cat	0,01-5	0,1
Ca^{2+}	0,01-1	0,05

Кроме того, в этот раствор могут быть добавлены анионные компоненты координационных соединений переходных металлов$^{2+}$, выбранных в диапазоне ppm-ppt количеств из аконитовой, лимонной, фумаровой, яблочной, щавелевоуксусной и янтарной кислот, в диапазоне ppm-ppt количеств из хелатообразующих полидентатных алкиламидов, и Mg в диапазоне ppm-ppt количеств.

Семена редиски, по 25 семян на чашку, высевали в 16 блюдцах Госселина для проращивания семян на кружках из специальной ватманской бумаги Whatman 598 Seed Culture, смоченных раствором контрольного питательного вещества или раствором композита гликана. Семена выдерживали при постоянной температуре 27° в темноте только для их дыхания. Фактом прорастания считали момент

времени, при котором наблюдалось появление первичного корешка у 50% семян, G_{50}. Результаты продемонстрировали ускорение прорастания в случае композита гликана со средним значением G_{50}=15 часов по сравнению со средним значением для контрольного питательного вещества G_{50}=22 hчасов, n=8, *p*=0,001. Обработка редиса путем нанесения на семена слоя композита гликана с нормой расхода 20-50 мкг/семя в расчете на массу сухого композита гликана доказала высокую эффективность такой обработки, значительно ускоряющей всхожесть по сравнению с контрольными питательными веществами в результате усиления потока первичных продуктов фотосинтеза. Аналогичное ускорение всхожести наблюдали для семян редиски, на которые предварительно наносили слой композита гликана при норме расхода 20-50 мкг композит гликана/семя и сушили, по сравнению с контрольными питательными веществами.

ПРИМЕР 7

Система для увеличения массы корней

Компонент	Диапазон концентраций %	Предпочтительная концентрация %
Фумаровая кислота	0,001-20	0,03
GG	0,001-1	0,1
Cat	0,01-5	0,01
Ca^{2+}	0,01-1	0,05

Кроме того, в этот раствор могут быть добавлены анионные компоненты координационных соединений переходных металлов$^{2+}$, выбранные из аконитовой, лимонной, фумаровой, яблочной, щавелевоуксусной и янтарной кислот, хелатообразующих полидентатных алкиламидов, и Mg в диапазоне ppm-ppt количеств.

Семена болгарского перца высевали на 12 делянках с однородной суглинистой почвой с указанными на этикетке нормами 12-26-26. Готовили композит гликана в воде и доводили значение pH раствора до 5,5 с помощью DAP, и также корректировали контрольный раствор до эквивалентного содержания P с помощью

DAP/MAP. Через две недели после прорастания, шесть выбранных случайным образом делянок подвергали одновременной пропитке и распылению композита гликана, направленному на посадки, и при этом ко всем 12 делянкам с болгарским перцем применялась одинаковая обработка для поддержания роста растений. Для того чтобы избежать скученности, каждая делянка содержала 20 растений, расположенных друг от друга на 50 см. Через 2 недели, собирали урожай растения вместе с неповрежденными корнями, затем отсекали корни от побегов, тщательно отмывали их от остатков почвы и высушивали в сушильном шкафу. Определяли сухую массу корней каждого из растений. Результаты показали, что средняя величина сухой массы корней в случае обработки композитом гликана составляет 1,2 граммов по сравнению со средней величиной 1,0 грамм в случае обработки с помощью контрольного раствора питательного вещества, n=6, p=0,02. Обработка композитом гликана значительно увеличивала сухую массу корней по сравнению с контрольной обработкой. В случае контрольной обработки присутствовали плоды с солнечными ожогами, в то время как они отсутствовали в случае обработки растений композитом гликана, что указывало на увеличение первичных продуктов фотосинтеза и на повышение качества собранного урожая.

ПРИМЕР 8

Пример повышения композитом гликана гидростатического давления

Поля цветов плюмерии (Plumeria) традиционно подвергают культивации при высокой интенсивности света ~1500-1700 микроэйнштейн/м^2/сек и при величине влажности от низких до средних значений ~20-30%. При этих условиях окружающей среды, ежедневные показания гидростатического давления регистрировали после полудня. Обычно, рано утром цветущие растения имеют высокое гидростатическое давление, но к середине дня листья начинают опускаться. Этот цикл полуденного увядания, характеризующийся изменением гидростатического давления от высокого значения до низкого значения, был визуально различим, так как поднятие листьев изменялось от верхнего положение до нижнего положения приблизительно на величину от 5 до 20

миллиметров (мм). Увеличение гидростатического давления является необходимой предпосылкой для роста, и гидростатическое давление измеряли по изменению поднятия листвы, особенно в полдень. Задачей исследования являлась регистрация изменения гидростатического давления у плюмерии путем измерения в миллиметрах изменения поднятия листьев и сравнение воздействия контрольного водного раствора питательных веществ с воздействием отдельной обработки корней с помощью 1-25 мл композита гликана 0,1-5 ppm Ethan. Состав композита гликана соответствовал составу из приведенного выше примера 6, но для повышения гидростатического давления могут, необязательно, применяться и другие приведенные в качестве примеров композиты гликанов. Например, в 8 часов утра наносили на корни эффективное количество 1-200 мл 0,1-5 ppm частично гидролизованных дегликозилированных инвертаз, и затем в полдень регистрировали величину поднятия листвы, характеризующую повышенное гидростатическое давление, в то время как результаты воздействия контрольного раствора указывали на снижение гидростатического давления. Относящуюся к тупоконечным растениям плюмерию тупую (Plumeria obtusa L.) выдерживали в пластиковых контейнерах объемом 4 л в течение недели с целью акклиматизации в условиях окружающей среды при воздействии прямого солнечного света, и затем изучали взаимосвязь суточных изменений гидростатического давления с вечерним поливом один раз в неделю. В середине недели между поливом, измеряли исходное положение листьев поздним утром и отмечали его на измерительных линейках, и позже, сравнивали с величинами поднятия этих же листьев через 5 часов после обработки.

Результаты. Поднятие листвы служило визуально различимым признаком повышенного гидростатического давления. В случае обработки композитом гликана, средняя величина поднятия листьев увеличивалась на 15 мм и была статистически значимой (n=6, p=0,003), в то время как при обработке листвы контрольным раствором питательного вещества средняя величина поднятия листьев уменьшалась на 5 мм. После обработки с помощью композитов гликанов с содержанием от 10 ppb до 800 ppm, поднятие

листвы был выше у растений, обработанных позже полудня после 15 часов, в то же время, обработка листвы контрольным раствором характеризовалась наиболее четко выраженной потерей гидростатического давления и уменьшением поднятия листвы, обусловленного циклом полуденного увядания.

В заключение необходимо отметить, что плюмерия положительно реагировала на обработку с целью повышения гидростатического давления, тогда как обработка контрольным раствором показывало снижение гидростатического давления. Подобное повышение качества сельскохозяйственных культур при повышении гидростатического давления происходило и в случае болгарского перца, декоративной капусты, тыквы, семечковых плодов и корнеплодов, обработанных композитами гликанов, приготовленных с подходящими анионными компонентами координационных соединений переходных металлов$^{2+}$. Например, анионные компоненты выбирали из одной или более аконитовой, фумаровой, глутаровой, яблочной, щавелевоуксусной и янтарной кислот, при их содержании 10-900 ppm и хелатообразующих полидентатных алкиламидов, таких как EDTA, EDDHA, HeEDTA, DTPA, HBED, MGDA, GLDA и других подобных, при их содержании 10-900 ppm. Рост и развитие всех фотосинтезирующих организмов зависят от роста клеток, инициированного повышенным гидростатическим давлением. Когда в результате применения систем композитов гликана раскрытых в изобретении вариантов осуществления в течение длительного времени увеличивалось гидростатическое давление, результаты характеризовались значительным усилением роста и развитием подвергнутого обработке фотосинтезирующего организма. Системы композитов гликанов, применяемые совместно с ускорителями дыхания, повышали урожайность сельскохозяйственных культур.

ПРИМЕР 9

Пример системы композита гликана для условий с низкой интенсивностью света

Воздействие контрольных питательных веществ на вегетативный рост канолы в тени сравнивали с выращиваемыми в тени группами канолы, обработанными композитом разветвленного N-связанного гликана и, кроме того, подвергнутые обработки композитом гликана

и контрольными питательными веществами группы канолы выращивали в незатененных условиях с целью определения благоприятной возможности повышения урожайности в условиях относительно пониженной освещенности. Семена канолы высевали в 36-луночных пластиковых поддонах, и через 1 месяц они демонстрировали рост даже в случае помещения растений, подвергнутых обработке контрольным раствором и композитом гликана в условиях тени, под ткани на 50% затеняющие свет. Растения, которые не были затенены, находились в условиях естественного полуденного освещения с интенсивностью в диапазоне 1500-1800 микроэйнштейн/м^2/сек, а под тканью на 50-85% затеняющей свет низкая интенсивность света находилась в диапазоне от 100 до 900 микроэйнштейн/м^2/сек или составляла менее половины полной интенсивности света. Проводили некорневую обработку с использованием поверхностно-активных веществ путем распыления или обрызгивания при норме расхода 100 галлонов/акр (378,5 литров/4047 м^2). Результаты, полученные при полном дневном свете и при обработке контрольными питательными веществами, сравнивали с результатами, полученными при нанесении композита гликана на листья канолы в тех же условиях. Композицию композита гликана растворяли в воде в следующем порядке: 1-100 мкМ Ethan; 0,1-25 мМ цитрата; 0,1-2 ppm Mn-CMS Mn-CMS; 1-25 ppm Ca-CMS, и доводили величину pH до 5,5 с помощью DAP, DKP или KOH. Урожай растений собирали через две недели и сушили при низкой температуре в сушильном шкафу при 70° в течение 48 часов. Высушенные побеги каждого из растений взвешивали, и заносили в приведенную ниже таблицу средние массы побегов в сухом состоянии и значения критериев Стьюдента для проверки равенства средних значений в группах.

В заключение необходимо отметить, что группа канолы в условиях контрольного затенения характеризовалась пониженной урожайностью по сравнению с группами в условиях контрольного полного дневного освещения и группами в условиях затенения, которые обрабатывались композитами гликанов. Более того, при обработке композитами гликанов затененных растений, повышения

качества и урожайности по сравнению с контрольной группой в условиях затенения были статистически значимыми.

	Контрольная группа в условиях затененности	Обработанная композитом гликана группа в условиях затененности	Контрольная группа в условиях полной освещенности
Средняя величина сухой массы (г)	0,214	0,256	0,270
Увеличение массы по сравнению с контрольной группой в условиях затененности		19,5%	20%
Статистическая значимость		p=0,000	

ПРИМЕР 10

Пример процесса получения дегликозилированных гликанов из гликопротеинов

Многие гликопротеины содержат гликаны, которые могут быть получены из семян бобовых растений, таких как канавалия мечевидная, или путем дегликозилирования из ряда ферментов. Инвертаза представляет собой производимый промышленностью фермент из пекарских дрожжей с подходящими гликановыми компонентами внутреннего ядра или внешних протрузий, которые могут составлять до трех четвертей от суммарной массы гликопротеина. Инвертаза содержит предпочтительные разветвленные гликаны с терминальными Man-лигандами, такие как GalManбелки; Man_n, такие как Man_{1-6}, маннотриозы, маннотетрозы и маннопентозы; Gal_nMan_n, такие как Gal_2Man и Gal_2Man_2; Gal_nMan_n-N-гликаны, такие как $Gal_2Man_4GlcNAc$ и $Gal_4Man_{10}GlcNAc_2$; Man_n-N-гликаны, такие как $Man_3GlcNAc$, и предпочтительные $Man_{1-15}GlcNAc_2$ и другие подобные

гликаны. Гликопротеин с молекулярной массой 270 кДа был слишком крупным, для того чтобы проникать в листву. Поэтому, для установления начального уровня для сравнения ферментативного расщепления, сначала проводили лабораторный эксперимент по высвобождению дегликозилированных гликанов из гликопротеинов, предпочтительно, из инвертазы.

Инвертазу денатурировали в разбавленном 0,2N растворе NH_4OH, pH 12, 80° в течение 10 минут и нейтрализовывали путем титрования с помощью 0,2N раствора HCl, подготавливали к расщеплению с помощью обработки 3% трипсином при 37° в течение ночи и затем денатурировали путем кипячения в течение 10 минут. Эти обработанные протеазой образцы характеризовались умеренной 50 мкМ активностью прорастания в композите гликана. Образцы дегликозилировали путем инкубации с 200 миллиединицами эндоглюкоаминидазы H при 37° в течение дня и денатурировали в разбавленном NH_4OH при pH 12 при 80° в течение 10 минут. Оставшиеся белок и пептиды осаждали и удаляли. Дегликозилированные гликаны обычно включали смеси O-связанных и N-связанных маннанов, и, в качестве гликановых компонентов композита гликана, изоляты или смеси гликана проявляли активность в диапазоне 0,01-1 ppm по массе.

Упомянутое выше дегликозилирование с помощью протолитических и глюколитических ферментов было относительно мягким, и, кроме того, включало использование дорогих биохимических реагентов. В результате проведения этих экспериментов было обнаружено, что начальная денатурация гликопротеинов с помощью основания значительно сокращает продолжительность последующего нагревания в кислоте, и, с точки зрения экономии энергии, является предпочтительной. Поэтому, предпочтительный процесс представлял собой гидролиз гликопротеинов в средах, которые выпускались промышленностью в больших количествах с относительно низкой стоимостью. Были испытаны предпочтительные методы, которые могут быть использованы, такие как обработка с помощью кислоты/основания, гидролиз, гидразинолиз и/или ферментация. Например, ацетолиз

(уксусная кислота:уксусный ангидрид:серная кислота 25:25:1) инвертазы давал активные дегликозилированные гликаны, которые характеризовались активностью при достаточно низкой концентрации 1-100 ppb. Необязательно, но и применяли новый лизис в малеиновой кислоте по варианту осуществления путем инкубации инвертазы в смеси малеиновая кислота:уксусный ангидрид:азотная кислота 25:25:10 при 60-80° в течение 1-24 часов. В качестве варианта, инвертазу инкубировали в смеси лимонная кислота:фосфорная кислота 25:1; в насыщенном растворе лимонной и/или янтарной кислоты и/или в 0,1-3N растворе выбранной минеральной кислоты, такой как серная кислота, и, предпочтительно, дегликозилировали прямым нитролизом в 1-3 N растворе азотной кислоты и инкубировали при перемешивании в течение 1-24 часов при 40-80°.

Предпочтительный метод частичного гидролиза инвертазы заключался в следующем. 10-30% инвертазы растворяли в щелочном водном растворе, таким как 0,2-1 N KOH и/или 0,2 N NH_4OH, при нагревании до 40-80° в течение 1-24 часов; перемешивали с 50-60% лимонной кислотой и инкубировали 1-24 часов при 40-80°. После инкубации с кислотой, доводили величину pH раствора до 3-6. Приготавливали препарат частично гидролизованной инвертазы, теперь уже дегликозилированной, для применения на полях, по меньшей мере, с 1-5 ppm Ca^{2+}, 0,5-1 ppm Mn^{2+} и, предпочтительно, с 0,01-6 ppm d-переходными металлами$^{2+}$, выбранными из Fe^{2+}, Ni^{2+}, Co^{2+}, Zn^{2+}, и с 1-5 ppm Mg^{2+}. Анионные компоненты координационных соединений переходных металлов$^{2+}$ выбирали из одного или более аконитатов, цитратов, фумаратов, глутаратов, оксалоацетатов и сукцинатов. В качестве варианта, анионные компоненты могут быть выбраны из упомянутых выше полидентатных хелатообразующих соединений. Для хранения растворов добавляли один или более консервантов. Повышение качества и урожайности культур фотосинтезирующих организмов было обусловлено обработкой указанных культур с помощью упомянутых выше растворов, содержащих от 1 ppb до 10 ppm дегликозилированной инвертазы. Например, когда композит гликана, содержащий дегликозилированную

инвертазу, наносили на фотосинтезирующие организмы при содержании частично гидролизованной инвертазы 100 ppb, доза составляла 0,1 мг/л.

Все упомянутые выше методы дегликозилирования позволяли получать композиты гликанов с одинаковой активностью. Исключение любого одного из компонентов композита гликана снижало активность. Композиты гликанов, состоящие из дегликозилированной инвертазы, характеризовались на порядок более высокой активностью, чем полученные их растительных камедей по вариантам осуществления. Кроме того, процессы получения гликанов путем гликозилирования инвертазы были более простыми и более экономически эффективными, чем процессы получения гликанов из других источников. Регулирование потока первичных продуктов фотосинтеза с помощью композитов гликанов, состоящих из дегликозилированной инвертазы, осуществлялось, кроме того, путем необязательного совместного применения с замедлителями дыхания в ppm количествах для улучшения вкусовых качеств или с ускорителями дыхания для повышения урожайности.

ПРИМЕР 11

Пример концентрата композита гликана, применяемого в присутствии насекомых опылителей

Инвертазу денатурировали в водном растворе основания путем перемешивания 200 г инвертазы в 1 литре водного 0,2 N раствора КОН и стерилизации паром в течение 4 часов. Добавляли при перемешивании 50% лимонную кислоту, и раствор нагревали до 80°C в течение 12 часов. После охлаждения, раствор титровали до pH 6 с помощью NH_4OH, и затем добавляли 1% Ca, 1% Mg, 1% Cat и воду до суммарного объема 2 литра. Конечный 10% частично гидролизованный раствор инвертаза содержал смесь 3-7% разветвленных O-связанных и N-связанных дегликозилированных гликанов, включая гликаны, которые показаны на фигуре 2. Корректировали величину pH этого концентрата до 4-8, предпочтительно, до pH 5, путем добавления соответствующих объемов оснований и/или кислот, выбранных из таких питательных веществ, как KOH, NH_4OH, $Ca(OH)_2$, $MnCO_3$, карбонат кальция, мука из морских раковин, HCl, H_2SO_4, фосфорная

кислота, MAP, DAP, DKP, MKP и другие подобные вещества, и, предпочтительно, мука из устричных раковин. Бурный рост сельскохозяйственных культур поддерживался за счет присутствия питательных элементов, которые могут быть введены в препарат в следующих предпочтительных количествах: основные питательные вещества для растений N-P-K, каждое по 1-25%, второстепенные питательные вещества 0,1-1% Ca, 0,05-0,5% Mg, 0,1-1% S, и/или питательные микроэлементы 0,0001-0,02% B, 0,0001-0,1% Cl, 0,0001 ppb - 0,005% Co, 0,001-0,05% Cu, 0,01-0,3% Fe, 0,02-0,1% Mn, 0,01 ppb - 0,005% Mo, 0,001-0,05% Zn, 0,001-0,1% Na и 0,0001-1 ppb Ni. В композиты гликанов могут быть предпочтительно дополнительно введены d-переходные металлы$^{2+}$, выбранные из одного или более Fe, Mn, Ni, Co, Zn, и анионные компоненты, выбранные из ускорителей дыхания и полидентатных хелатообразующих веществ, и другие подобные вещества. Принимая во внимание необходимость хранения жидких концентратов, важным компонентом препарата жидкого концентрирована композита гликана являлся консервант, такой как, например, выбранный из упомянутых выше IT в диапазоне от 1 до 800 ppm, предпочтительно, BIT в диапазоне 100-200 ppm.

Для сельскохозяйственных культур является важным не только доступность полного набора питательных веществ для растений, но также и здоровье опылителей, таких как медоносные пчелы, бабочки, мотыльки, жуки, птицы и шмели, для обеспечения их полным спектром питательных веществ в процессе собирания ими нектара, содержащего витамины и минералы из растений. В культурах фотосинтезирующих организмов, Co^{2+} представляет собой d-переходный металл$^{2+}$ по варианту осуществления, который метаболизируется в витамин B_{12}. Коррекция дефицита этого витамина в результате некорневого нанесения композитов гликанов, содержащих, например, Co-CMS, оказывала положительное влияние на здоровье, в частности, опылителей и травоядных животных, потребляющих фотосинтезирующие организмы и нектар сока, обогащенные B_{12}, и другие питательные вещества из здоровых фотосинтезирующих культур. Например, при введении в препарат 0,0005% Co в качестве подходящего переходного металла и нанесении препарата на цветущую культуру, его обогащенные

метаболиты становились доступными от цветка до пчелы и до ее колонии. Непосредственно перед нанесением на культуру, концентрат разбавляли водой или другими применяемыми в сельском хозяйстве носителями в диапазоне от 1 ppb до 100 ppm, предпочтительно, от 10 ppb до 10 ppm. Полученный разбавленный водный раствор наносили путем разбрызгивания, или наносили на корневую систему. Для некорневого нанесения, в композит гликана вводили одно или более из применяемых в сельском хозяйстве поверхностно-активных веществ и/или добавок. В течение сезона проводили одно или более нанесений, предпочтительно, 1-2 раза в месяц. Для дальнейшей оптимизации потока первичных продуктов фотосинтеза с целью повышения сладости фотосинтезирующих организмов и увеличения продукции ими нектара, композиты гликанов применяли в течение недели цветения и сбора урожая в сочетании с замедлителями дыхания, с цитокининами в ppm количествах и гиббереллинами в ppm количествах, для эндогенного усиления вкуса и обогащения питательными веществами.

ПРИМЕР 12

Пример композита гликана на основе инвертазы (IGC)

Композиты гликанов на основе смесей гликанов, получаемых дегликозилированием инвертазы

Ингредиент	Диапазон концентраций %	Предпочтительная концентрация %
Дегликолизированная инвертаза	1 ppb - 100 ppm	0,1-10 ppm
Cat	0,01-10	0,05
Лимонная кислота	0,001-20	0,001-15
Ca^{2+}	0,001-1	0,005
Мочевины	0,001-25	1-15
Консервант IT	0,001-0,2	0,01
Вода, по балансу до 100%		

В IGC могут быть добавлены компоненты координационных

соединений переходных металлов$^{2+}$, выбранные из d-переходных металлов, анионные компоненты и Mg в следовых количествах. Ускорители дыхания могут быть выбраны, например, из одной или более аконитовой, фумаровой, глутаровой, яблочной, щавелевоуксусной и янтарной кислот. Необязательно, анионные компоненты могут быть выбраны из одного или более полидентатных хелатообразующих веществ, таких как EDTA, EDDHA, HeEDTA, DTPA, HBED, MGDA, GLDA и другие подобные вещества.

IGC увеличивает урожайность и качество томатов

При стрессовых засушливых условиях для выращивания томатов, на растения наносили IGC и сравнивали с нанесением контрольных питательных веществ. IGC значительно улучшал общий рост, урожайность и качество обработанных томатов по сравнению с нанесением контрольных веществ. Семена томатов, обработанные с помощью IGC путем нанесения его слоя на семена, демонстрировали быструю всхожесть.

Материалы и методы

Проращивали семена гибридного сорта томатов Steak Sandwich (Burpee®) в автоматически контролируемых условиях окружающей среды при температуре 32° в темноте. Через неделю после прорастания, проростки переносили на открытый воздух для выращивания в засушливой среде 45°:32° LD (температура в светлое и темное время суток), относительная влажность 10%, продолжительность светлого и темного времени суток (LD) 16:8 часов и в основном солнечные дни с фотосинтетически активным излучением (PAR) до 1800 мкмоль фотонов на метр^2 в секунду в полдень. В процессе исследования, одновременно наносили растворы на испытуемые растения и контрольные растения, и все растения находились в одинаковых условиях, соответствующих надлежащей лабораторной практике. Поддерживали на достаточном уровне внесение удобрений с поливной водой, для того чтобы корни были равномерно увлажненными, но и достаточно сухими без признаков повреждения водой. Репликацию групп растений выращивали в пластиковых поддонах TLC Pro 606, каждый из которых имел 36 лунок объемом 125 мл, затем переносили в пластиковые горшки

диаметром 33 см со средой, не содержащей почвы. Контрольные и обработанные томаты отбирали по размеру и активности роста, и недоростки, поврежденные или больные растения, и семена отбрасывали до начала исследования, для того чтобы получить однородные репликации. Нормы расхода для трех некорневых нанесений составляли 200 л/га с содержанием смеси 0,1-1 ppm полученных дегликозилированием инвертазы гликанов в наносимом композите гликана. Сладость, как показатель уровня вкуса, измеряли по шкале Брикса в нектаре сока, выжатого из отдельных томатов, с помощью калиброванного цифрового рефрактометра (Reichert).

IGC получали в соответствии со способами, описанными в примере 11, модифицированными для приведенной в таблице выше композиции концентрата IGC. Для некорневого нанесения, добавляли 0,03-0,05% поверхностно-активного вещества Sil для некорневого нанесения в соответствии с инструкциями на этикетке. Все растения получали одинаковые количества питательных веществ в результате применении одинаковых распылителей растворов для полива сверху.

Семена проращивали на увлажненной водой ватманской бумаге Whatman 598 в блюдцах Госселина по 20 семян/блюдце и 5 репликаций на обработку. На подвергаемые обработке семена наносили слой 0,1 мг IGC, высушивали на воздухе в течение 48 часов, и семена высевали. Контрольные семена обрабатывали теми же самыми питательными веществами, но без IGC. Прорастание определяли по появлению корешков у 50% семян. Через 7 дней проростки пересаживали на поддоны.

Для проведения статистического анализа, каждый набор данных содержал результаты, полученные в параллельных экспериментах. Различия между подвергнутыми обработке группами и контрольными группами в каждом эксперименте были статистически значимыми, если не было указано иное, и планки погрешностей характеризовались 95% доверительными интервалами.

Результаты

Семена томатов с нанесенным слоем IGC характеризовались ускоренным прорастанием. Во всех репликациях, подвергнутые

обработке семена показывали 50% всхожесть через 60 часов. В отличие от этого, контрольные семена показывали 50% всхожесть во всех блюдцах через 72 часа.

Целью экспериментов являлась определение воздействия IGC на качество плодов и урожайность в стрессовых засушливых условиях. Полевые обработки в упомянутых выше условиях, предусматривавшие использование замедлителя дыхания за 2 дня до сбора урожая, сравнивали с обработками контрольными питательными веществами для определения влияния на сладость. Независимо от цвета плодов, через 2 дня после обработки собирали двенадцать из самых больших томатов с диаметром >50 мм и регистрировали их живую массу. Половина томатов, подвергнутых контрольной обработке, имела красный цвет, тогда как все томаты, подвергнутые обработке, были красного цвета. В таблице 4 показано, что соответствующая обработка эндогенных первичных продуктов фотосинтеза нектара сока приводила к повышению качества плодов, выраженному как среднее значение 5,5 по шкале Брикса, которое было значимо выше (p=0,012), что выражалось улучшением вкуса, чем среднее значение 4,9 по шкале Брикса в случае обработки контрольными питательными веществами.

Таблица 4. Повышение вкусовых качеств томатов (средние значение по шкале Брикса)

Среднее значение по шкале Брикса	Среднее значение по шкале Брикса	
Контроль	IGC	n=12
4,9	5,5	*p*=0,012

Количество томатов на одном растении является показателем урожайности плодов, и в таблице 5 показано, что обработка с помощью IGC давала в результате среднее количество плодов, равное 3,2 на растении, которое было значимо (p=0,000, n=12) больше, чем среднее количество плодов, равное 1,6 на растении, подвергавшемся обработке контрольными питательными веществами. В результате обработки с помощью IGC повышалась урожайность, увеличивалось количество нектара в соке плодов и повышалась

сладость и улучшались вкусовые качества при выращивании томатов в этой засушливой среде.

Таблица 5. Среднее количество плодов томатов на одном растении увеличивалось в результате обработки с помощью IGC

Среднее количество плодов на одном растении	Среднее количество плодов на одном растении	
Контроль	IGC	n=12
1,6	3,2	*p*=0,000

Анализировали среднюю суммарную массу плодов томатов на одном растении в качестве меры урожайности в случаях обработки растений с помощью контрольных питательных веществ и с помощью IGC. В таблице 6 показано, что обработка с помощью IGC давала в результате среднюю урожайность плодов на одно растение 277 граммов влажной массы/14 граммов сухой массы, которая была значимо (*p*=0,002/*p*=0,004) выше, чем средняя урожайность плодов на одно растение 124 граммов влажной массы/7 граммов сухой массы в случае обработки контрольными питательными веществами.

Таблица 6. Масса плодов томатов с одного растения увеличивалась в результате обработки с помощью IGC

Средняя влажная масса плодов		
Контроль	IGC	n=10
124 грамм/растение	277 грамм/растение	*p*=0,002
Средняя сухая масса плодов		
Контроль	IGC	n=10
7 грамм/растение	14 грамм/растение	*p*=0,004

Исследовали воздействие обработки с помощью IGC на различные виды растений, и результаты представлены в таблице 7. Применение было эффективным в случае растений, по поводу которых известно, что они характеризуются C_3 и C_4 метаболизмом.

Таблица 7. Перечень исследованных растений, на которые оказывало положительное воздействие обработка с помощью IGC

Растение	Способ обработки
Герань	Корневой
Петуния	Распыление и промачивание
Лантана	Корневой
Зеленый чай	Корневой
Бальзамин	Некорневой
Болгарский перец	Некорневой
Редис	Корневой
Кофейное дерево	Корневой
Газонная трава	Распыление и промачивание
Кукуруза	Нанесение слоя препарата на семена

Выводы

Быстрое прорастание семян после их обработки с помощью IGC указывало на усиление дыхания и, так как все растения дышат, объясняло, почему растения видов CAM, C3 и C4 характеризовались положительной ответной реакцией на воздействие композитов гликанов. Эндогенное модулирование потока первичных продуктов фотосинтеза под воздействием композита гликана обуславливало повышение нектара сока томатов, оцениваемое по шкале Брикса, с улучшением вкусовых качеств. При стрессе под влиянием факторов окружающей среды в засушливой зоне, культивирование томатов путем обработки их композитами гликанов демонстрировало повышение качества и урожайности по сравнению с контрольной обработкой. Регулирование потока первичных продуктов фотосинтеза с помощью IGC дополнялось необязательным совместным применением с замедлителями дыхания, с цитокинином в количестве 10-200 ppm, для усиления вкуса, или с ускорителями дыхания для повышения урожайности. Кроме того, в условиях кислородного голодания, добавление O_2-генератора, 30-100 мл H_2O_2 на одно растение, поддерживало в здоровом состоянии корневую систему, что обеспечивало постоянство высокого качества и высокой урожайности

сельскохозяйственных культур.

ПРИМЕР 13

Пример частично гидролизованной гуаровой камеди (GG)

Ингредиент	Диапазон концентраций %	Предпочтительная концентрация %
GG	1-90	3-20
Cat	1-10	5
Ca^{2+}	0,01-3	1
Яблочные кислоты	0,1-50	5-25
Мочевины	1-25	5-15
BIT	0,001-0,2	0,05
Вода, по балансу до 100%	По балансу	

В этот препарат могут быть дополнительно введены ppb-ppm количества компонентов координационных соединений d-переходных металлов$^{2+}$, выбранных из Zn, Co, Ni, аконитовой, лимонной, фумаровой, глутаровой, щавелевоуксусной и янтарной кислот, хелатообразующих алкиламидов и Mg^{2+}.

Фотосинтезирующие организмы, обработанные с помощью композитов гликанов, состоящих их дегликозилированных GG, характеризовались усиленным потоком первичных продуктов фотосинтеза, повышающим качество и урожайность сельскохозяйственных культур. Регулирование потока первичных продуктов фотосинтеза с помощью композитов гликанов, состоящих из GG, дополнялось необязательным совместным применением с замедлителями дыхания для усиления вкуса или с ускорителями дыхания для повышения урожайности.

Пример 14

Пример частично гидролизованной камеди тары (HTG)

Камеди тары производятся промышленностью в больших количествах, и это растение содержит крупные полимеры звеньев разветвленных $GalMan_3$, подходящих для дегликозилирования с

помощью упомянутых выше процессов ацетолиза. А именно, дегликозилированные гликаны вырабатывали из пищевой камеди тары ацетолизом (уксусная кислота:уксусный ангидрид:серная кислота 25:25:1 по объему, 60-80°C, 24-96 часов) или нитролизом (лимонная кислота:уксусный ангидрид:азотная кислота 20:20:10), получая частично гидролизованные дегликозилированные разветвленные $GalMan_3$. Гликаны в форме частично гидролизованной дегликозилированной камеди тары (HTG) демонстрировали высокую активность в композитах гликанов в диапазоне концентраций 50-200 ppm. Исследования HTG в качестве гликанового компонента показали, что HTG проявляет активность только в присутствии компонентов композита гликана, при этом использовали следующие методы.

Капусту выращивали в контролируемых условиях окружающей среды, описанных выше, в пластиковых ящиках с 36 лунками для растений объемов 125 $см^3$/лунка. Все водные растворы для некорневого внесения содержали 0,5 г Sil/л, pH 6, и в отдельные препараты вводили следующие компоненты: металлы$^{2+}$ - 1 ppm сульфата марганца, 1 ppm сульфата железа(II) и 10 ppm нитрата кальция, растворенные в воде с 50 PPM DAP; анионный компонент координационных соединений переходных металлов$^{2+}$ - 300 ppm α-кетоглутарата калия, сокращенно aKG; и 100 ppm HTG. Компоненты композита гликана и металлов$^{2+}$ наносили раздельно и в смешанной друг с другом форме для исследования воздействия на рост растений отдельных компонентов по сравнению с полным составом композита гликана. Растворы aKG, HTG и aKG+HTG растворяли в водных растворах металлов$^{2+}$, и, в результате чего, в растворах для обработки присутствовали координационные соединения переходных металлов$^{2+}$, состоящие из aKG, Ca^{2+} и Mn^{2+}. Металлы$^{2+}$ служили в качестве контроля.

При распускании первых четко выраженных листьев, применяли некорневую обработку с нормой расхода 10 мл/ящик, n=36. Ростки с листьями собирали, сушили и взвешивали.

Результаты испытаний, приведенные в таблице HTG ниже, представлены в форме сравнения средней величины сухой массы

ростков капусты при обработке со средней величиной сухой массы ростков капусты при обработке только раствором металлов$^{2+}$, исходным раствором, в котором приготавливали все другие растворы для обработки. Ростки, обработанные с помощью aKG, значимо не отличались (n=36; *p*=0,057) с точки зрения выхода от контрольного раствора металлов$^{2+}$; растворы HTG с металлами$^{2+}$ характеризовались значимым (n=36, *p*=0,001) положительным воздействием по сравнению с растворами только одних металлов$^{2+}$. И наконец, aKG+HTG+металлы$^{2+}$ демонстрировали самое высоко значимое (n=36, *p*=0,000) повышение выхода по сравнению с металлами$^{2+}$. Кроме того, полный состав композита гликана характеризовался высоко значимыми (aKG+HTG в сравнении с aKG, *p*=0,000; aKG+HTG в сравнении с HTG, *p*=0,000) повышениями выхода по сравнению со всеми другими вариантами обработки.

Таблица HTG

	Средняя величина сухой массы, грамм	*p*
Металлы$^{2+}$	0,56	
aKG	0,59	0,057
HTG	0,61	0,001
aKG+HTG	0,63	0,000

В заключение необходимо отметить, что композит гликана продемонстрировал наиболее высоко значимые улучшения при совместном приготовлении в форме полного состава композита гликана при нанесении на фотосинтезирующие организмы, с целью воздействия на первичные продукты фотосинтеза. Кроме того, положительные эффекты воздействия полных составов композитов гликанов подтверждались после дополнительного введения d-переходных металлов$^{2+}$, Ca^{2+} и Mg^{2+}. Регулирование потока первичных продуктов фотосинтеза с помощью полных составов композитов гликанов, кроме того, дополнялось необязательным совместным применением с замедлителями дыхания для усиления вкуса или с ускорителями дыхания для повышения урожайности.

ПРИМЕР 15

Пример частично гидролизованной камеди бобов рожкового дерева (PHLB)

Ингредиент	Диапазон концентраций %	Предпочтительная концентрация %
PHLB	0,1-5	1-3
Cat	1-10	5
Ca^{2+}	0,01-3	1
CMS	0,1-50	5-25
AMS	1-25	5-15
BIT	1-750 ppm	75-100 ppm
Вода, по балансу до 100%		

В этот препарат PHLB могут быть дополнительно введены один или более d-переходных металлов$^{2+}$, анионные компоненты и/или Mg^{2+}. Обработка фотосинтезирующих организмов с помощью PHLB приводила в результате к усилению потока первичных продуктов фотосинтеза, что повышало качество и урожайность культур. Регуляцию потока первичных продуктов фотосинтеза с помощью композитов гликанов, состоящих из PHLB, дополнительно контролировали путем необязательного совместного применения замедлителя дыхания, 10-200 ppm салициловой кислоты, с целью улучшения вкусовых характеристик.

ПРИМЕР 16

Методы и композиции для ускорения проращивания

Ингредиент	Диапазон концентраций, г/л	Предпочтительная концентрация, г/л
Ethan	1 ppb - 1 ppm	10-100 ppb
Глутаровая кислота	0,0007-1	0,003
KOH	pH 5-7,5	pH 5,5
Cat	0,01-5	0,1

Ca^{2+}	0,01-1	0,05

Для применения с целью более эффективного прорастания семян, в этот препарат могут быть добавлены анионные компоненты координационных соединений переходных металлов$^{2+}$, которые являются ускорителями дыхания, выбранными из одной или более аконитовой, фумаровой, глутаровой, яблочной, щавелевоуксусной и янтарной кислот и их фосфатных солей.

Семена редиса, 25 семян на блюдце, высевали в 16 репликациях в блюдцах Госселина для проращивания семян на кружках ватманской бумаги Whatman 598 Seed Culture, смоченных контрольным раствором питательных веществ или раствором композита гликана. Семена выдерживали при постоянной температуре 27°C в темноте только для поддержания дыхания. Прорастание определяли в тот момент, когда появлялись корешки у 50% семян, G_{50}. Результаты показали ускорение всхожести в случае обработки композитом гликана, среднее значение G_{50}=15 часов по сравнению со средним значением G_{50}=22 часа, n=8, p=0,001 в случае обработки контрольным раствором питательных веществ. Обработка редиса путем нанесения слоя на семена с нормой расхода 20-50 мкг/семя в расчете на сухую массу композита гликана доказывала высокую активность и значимое ускорение всхожести по сравнению с обработкой контрольным раствором питательных веществ в результате усиления потока первичных продуктов фотосинтеза. Аналогично, всхожесть убыстрялась у семян редиса, на которые предварительно наносили слой и высушивали 20-50 мкг композита гликана/семя по сравнению с обработкой контрольным раствором питательных веществ.

ПРИМЕР 17

Композиты N-связанных гликанов

Ингредиент	Диапазон концентраций, ppm	Предпочтительная концентрация, ppm
Ethan	0,001-1	0,1
Лимонная кислота	0,001-5	0,05

Ca^{2+}	1-10	5
Cat	0,01-10	3

В этот препарат могут быть дополнительно введены анионные компоненты координационных соединений переходных металлов$^{2+}$. Например, анионные компоненты могут быть выбраны из ускорителей дыхания и полидентатных хелатообразующих веществ.

Композиты гликанов для корневого нанесения готовили в 1 л воды при перемешивании при комнатной температуре от 25 до 35°C. Препарат титровали с помощью KOH и/или NH_4OH до pH 5-7,5, и наносили при норме расхода от 500 до 750 галлонов/акр как можно ближе к корням путем промачивания, разбрызгивания-промачивания, внесения в междурядье и/или путем внесения с поливной водой. При поливе, обработку проводили путем промачивания почвы раствором препарата композита гликана в направлении корней для повышения качества и урожайности сельскохозяйственной культуры. Обработку проводили от одного раза в неделю до одного раза в месяц, по мере необходимости, в вегетационный период.

ПРИМЕР 18

Жидкий концентрат инвертазы

Гликопротеины инвертазы состоят из белков ядра и полимеров Man_n поверхности. Соответственно, эти гликопротеины подвергали частичному гидролизу с получением дегликозилированных Man_n. При приготовлении из дегликозилированной инвертазы композитов гликанов и нанесении их на фотосинтезирующие организмы, дегликозилированная инвертаза модулировала поток энергии от фотосинтеза к дыханию. Концентрированные препараты композита гликана, содержащие дегликозилированные N-связанные разветвленные цепи из инвертазы, разбавляли водой до полевых доз 10 ppb - 5 ppm для фотосинтезирующих организмов и применяли для исследования прорастания, в котором они характеризовались высокой активностью при содержаниях всего лишь 10 ppb дегликозилированной инвертазы.

Композиты гликанов, кроме того, приготавливали для регулирования потока первичных продуктов фотосинтеза с необязательным набором из замедлителей дыхания для повышения

вкусовых качеств и из ускорителей дыхания для повышения урожайности. Координационные соединения переходных металлов$^{2+}$ для дегликозилированной инвертазы могут быть дополнительно выбраны из анионных компонентов, которые являются ускорителями дыхания, из таких как ppm количества аконитовой, фумаровой, глутаровой, яблочной, щавелевоуксусной и янтарной кислот. Необязательно, но анионные компоненты могут быть выбраны из полидентатных хелатообразующих соединений, из таких как ppm количества EDTA, EDDHA, HeEDTA, DTPA, HBED, MGDA, GLDA и других подобных соединений.

Обработка с помощью композита гликана приводила в результате к повышению качества и урожайности сельскохозяйственных культур, например, голубики, листовых овощей, хлопка, зерновых культур, томатов, вишни, лука, кофе, бананов, цитрусов, дыни, зеленолистных овощей, орехов, семечковых плодов, ягод, плодовых деревьев, продовольственных культур, цветов, деревьев, газонных трав и декоративных культур.

Методы

К 40 мл сильного основания, предпочтительно выбранного из 0,2 N KOH, NH_4OH и $Ca(OH)_2$, добавляли при перемешивании 10-12 г сухого порошка инвертазы, предпочтительно с активностью 200000 единиц Самнера/г, и водный щелочной раствор нагревали паром до 60-80°C в течение 2-24 часов. Затем, добавляли при перемешивании 20 г лимонной кислоты, и раствор нагревали с помощью пара при 60-80°C в течение 3-12 часов. Чем ниже температура нагревания, тем более длительной должна быть инкубация, и после этого процесса следовало охлаждение до комнатной температуры. Добавляли при перемешивании подходящее основания, предпочтительно выбранное из KOH, NH_4OH и $Ca(OH)_2$, для доведения величины pH до 4-6. Доводили объем до 100 мл с получением 10% дегликозилированной инвертазы. Готовили исходный раствор 1-6 ppm Cat, и 1 мл 10% дегликозилированной инвертазы разбавляли в 1 л исходного раствора Cat с получением жидкого концентрата дегликозилированной инвертазы с содержанием 100 ppm. Добавляли при перемешивании 100 ppm BIT с получением готового жидкого

концентрата дегликозилированной инвертазы.

Разведения жидкого концентрата дегликозилированной инвертазы для применения в поле: 10 мл жидкого концентрата дегликозилированной инвертазы с содержанием 100 ppm разбавляли в 1 л воды с получением 1 ppm дегликозилированной инвертазы, затем путем последовательных разбавлений получали содержания 1, 10, и 100 ppb, по мере необходимости. При некорневом внесении требовалось добавление одного или более используемых в сельском хозяйстве поверхностно-активных веществ, таких как 0,5 г/л Sil. Применение низких концентраций дегликозилированной инвертазы в диапазоне 10 ppb - 5 ppm было эффективным и характеризовалось значительно более ранним прорастанием и повышением качества и урожайности фотосинтезирующих организмов по сравнению с контрольной обработкой. Регулирование потока первичных продуктов фотосинтеза с помощью композитов гликанов, состоящих дегликозилированной инвертазы, дополнялось совместным применением замедлителя дыхания, 1-100 ppm гиббереллина, для улучшения вкусовых характеристик. Кроме того, в условиях кислородного голодания, добавление 1 л среды с 10 г CaO_2 способствовало достижению высокого качества и высокой урожайности культур.

ПРИМЕР 19

Пример частично гидролизованных растительных камедей

Растительные камеди выбирали из продуктов с высоким содержанием разветвленных цепей маннана, которые частично гидролизовали следующими методами: гуаровую камедь, конжаковую камедь, камедь бобов рожкового дерева, камедь тары и камедь фителефаса раздельно растворяли в воде при 60-80° при перемешивании в виде 1% по массе камеди. К каждому раствору камеди добавляли 1-3 N азотную кислоту и 5-25% уксусный ангидрид. Растворы выдерживали при 70-80° в течение 1-8 часов. Растворы охлаждали до 30-40° и титровали до pH 3,5-4 с помощью $Ca(OH)_2$, KOH и/или NH_4OH. К растворам добавляли 30-50% лимонную кислоту до насыщения и нагревали до 60-80°C в течение 1-24 часов. Растворы охлаждали до комнатной температуры и титровали до pH 5-

6 с помощью $Ca(OH)_2$, KOH, $MnCO_3$ и/или NH_4OH. Растворяли 10X Cat в растворе частично гидролизованной камеди с получением 0,1% камеди. Последовательные разведения с помощью Cat давали образцы с различными дозами, и сравнивали их действие с действием контрольного раствора питательных веществ. Примеры компонентов для композитов гликанов, содержащих частично гидролизованные растительные камеди, приведены в таблице компонентов ниже.

Таблица компонентов

Компонент	Диапазон концентраций %	Предпочтительные концентрации %
Растительная камедь	0,01-3	0,1
HNO_3:уксусный ангидрид:CMS	5:5:5-25:25:60	10:10:50
NH_4OH, KOH, $Ca(OH)_2$	pH 3-6	pH 5,5
Координационное соединение переходного металла$^{2+}$	0,01-1	0,1
Координационное соединение Ca	0,01-3	0,1

Исследование биологической активности

Семена редиса по 30 штук на блюдце высевали в 20 репликациях в блюдцах Госселина для проращивания семян на кружках ватманской бумаги Whatman 598 Seed Culture. Семена выдерживали при постоянной температуре 27° в темноте для поддержания только дыхания. Прорастание определяли в тот момент, когда появлялись корешки у 50% семян, G_{50}.

Результаты показали более быстрое прорастание со средней величиной G_{50}=15 часов в случае композита гликана по сравнению со средней величиной G_{50}=22 часа, n=10, p=0,001 в случае контрольного питательного вещества. Активности различных частично гидролизованных (PH) камедей характеризовались общими зависимостями концентраций, необходимых для достижения величины активности G_{50}, от содержания в них разветвленных маннанов. Наблюдаемые активности изменялись от низких значений для частично гидролизованных гуаровой камеди, конжаковой камеди,

камеди рожкового дерева, камеди тары до высоких значений для частично гидролизованной камеди фителефаса, как это подробно представлено в таблице активных доз (ppm) частично гидролизованных (PH) камедей.

Обработка семян редиса с помощью композитов гликанов камедей из различных источников характеризовалась различными уровнями эффективности и значимо ускоряла всхожесть по сравнению с контрольными питательными веществами. Быстрая всхожесть была обусловлена эндогенным увеличением потока первичных продуктов фотосинтеза. Предпочтительные ускорители дыхания включали лимонную и яблочную кислоты. Кроме того, в условиях кислородного голодания, дополнительная обработка каждого корня с помощью 1 л среды с 20 г CaO_2 способствовала усилению роста корней, что приводило в результате к высокому качеству и высокой урожайности сельскохозяйственных культур.

Таблица активных доз (ppm) частично гидролизованных (PH) камедей

100 ppm GG
30 ppm частично гидролизованной конжаковой камеди
20 ppm частично гидролизованной камеди рожкового дерева
20 ppm частично гидролизованной камеди тары
10 ppm частично гидролизованной камеди фителефаса

ПРИМЕР 20

Пример жидкого концентрата композит гликана из инвертазы

Материалы: порошок инвертазы MaxInvert 200 (DSM), безводная лимонная кислота (Brandt)

Высококонцентрированный жидкий раствор композита гликана из инвертазы получали путем денатурации и дегликозилирования активной инвертазы при нагревании до 80° в насыщенном цитратном растворе. Сначала приготавливали насыщенный 50% раствор лимонной кислоты в воде. К 500 мл насыщенного раствора лимонной кислоты медленно добавляли 100 г сухого порошка инвертазы MaxInvert 200 при перемешивании мешалкой (300-800 об/мин) для предотвращения

образования комков. После распределения инвертазы в растворе, скорость перемешивания снижали до 100 об/мин для минимизации пенообразования. Раствор нагревали до 80° и выдерживали его при 75-85° в течение 8 часов при медленном 100 об/мин перемешивании, что приводило к образованию дегликозилированных продуктов, смеси гликановых компонентов композита гликана, в результате процесса частичного гидролиза инвертазы. После охлаждения до комнатной температуры, добавляли при перемешивании консервант, 100 ppm BIT, и суммарный объем доводили до 500 мл с помощью воды с получением 20% раствора гликана.

Приготавливали исходный концентрированный раствор металла$^{+2}$, включающий мочевину со сверхнизким содержанием биурета, Ca, Mn, Fe, Zn, Mg, эмульгатор из статистического блок-сополимера, такого как Pluronic L-62, низшие алифатические спирты, предпочтительно, пропанолы, консерванты, такие как BIT, концентрации каждого компонента приведены в таблице состава концентрата композита гликана из инвертазы. Аликвоту 5 мл 20% раствора гликана разбавляли в 10 л исходного концентрированного раствора металла$^{+2}$ с получением раствора 100 ppm композита гликана и титровали с помощью лимонной кислоты, KOH и/или NH_4OH до величины pH в диапазоне 5-8. Этот продукт 100 ppm композита гликана приготавливали для разбавлений при применении на полях до 0,01-1% в воде для нанесения на фотосинтезирующие организмы. Например, 10 мл композита гликана в 1 л воды давал раствор с 1 ppm гликана, и аналогично, 1 галлон/100 галлонов на акр или 3 жидких унции/1000 футов^2. Кроме того, применяли и последовательные разбавления, в случае необходимости. Разбавленный для применения в поле композит гликана из дегликозилированной инвертазы проявлял эффективность в диапазоне от 0,01 до 10 ppm гликана при корневом нанесении, и/или вместе с добавками в указанных на этикетке нормах расхода поверхностно-активных веществ при некорневом нанесении от 0,1 до 10 ppm, гликан доказывал свою эффективность при корневом нанесении.

Таблица состава концентрата композита гликана из инвертазы

pH 7-8		

Входящие компоненты	**Предпочтительные концентрации г/10 л**	**Диапазон концентраций в %**
Вода	8617	60-90
20% гликан	5	0,01-10
Мочевина	700	5-25
Mg 2,5%, EDTA	200	1-10
Mn 6%, EDTA	50	0,3-5
Fe 7%, EDTA	100	0-10
Ca 3%, цитрат	68	0,5-5
Zn 9%, ацетат	50	0,3-5
Pluronic L-62	100	1-6
Изопропанол	100	0,5-10
BIT	6	0,08-0,3

Несмотря на то, что характерные признаки раскрытых в изобретении вариантов осуществления описаны применительно к одному примеру, но не для других примеров, тем не менее, это сделано только из соображений удобства, и, поэтому, некоторые характерные признаки одного описанного примера могут быть объединены с одним или несколькими характерными признаками других примеров в соответствии с раскрытыми в изобретении способами и препаратами.

Для специалистов в данной области является очевидным возможность существования и других комбинаций способов и препаратов, раскрытых в изобретении вариантов осуществления, которые входят в объем приведенных далее пунктов формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Композит гликана, включающий разветвленный дегликозилированный гликан и одно или более координационных соединений переходных металлов$^{2+}$.

2. Композит гликана по п. 1, где указанный разветвленный дегликозилированный гликан имеет терминальный лиганд из гликопиранозы или ацилгликозамина.

3. Композит гликана по п. 1, где указанный разветвленный дегликозилированный гликан представляет собой Man_{1-8}-Gly_{1-8}.

4. Композит гликана по п. 1, где указанное одно или более координационных соединений переходных металлов$^{2+}$ включают (a) один или более анионных компонентов и (b) один или более компонентов металлов$^{2+}$.

5. Композит гликана по п. 1, дополнительно включающий один или более консервантов.

6. Композит гликана по п. 5, где один или более консервантов выбирают из группы, состоящей из бензоизотиазолинонов, метилхлоризотиазолинонов, метилизотиазолинонов и их комбинаций.

7. Композит гликана по п. 1, где указанный разветвленный дегликозилированный гликан выбирают из группы, состоящей из O-связанных гликанов и N-связанных гликанов с Gly_{m-n}, где m=1-8 и n=1-8, и где указанное одно или более координационных соединений переходных металлов$^{2+}$ включают как компоненты металлов$^{2+}$, так и один или более анионных компонентов.

8. Композит гликана по п. 1, где указанный разветвленный дегликозилированный гликан представляет собой триманнопиранозил-N-гликан.

9. Способ усиления роста дыхания фотосинтезирующего организма, включающий нанесение на указанный организм эффективного количества препарата, включающего композит гликана, состоящий из одного или более разветвленных дегликозилированных гликанов и одного или более координационных соединений переходных металлов$^{2+}$.

10. Способ по п. 9, где указанный дегликозилированный гликан выбирают из группы, состоящей из O-связанных гликанов и

N-связанных гликанов с Gly_{m-n}, где m=1-8 и n=1-8.

11. Способ по п. 9, где одно или более координационных соединений переходных металлов$^{2+}$ включают как компоненты металлов$^{2+}$, так и один или более анионных компонентов.

12. Способ по п. 11, где указанный анионный компонент координационного соединения переходного металла$^{2+}$ в указанном композите гликана выбирают из группы, состоящей из хелатообразующих полидентатных алкиламидов, ускорителей дыхания, аконитатов, цитратов, фумаратов, глутаратов, малатов, оксалоацетатов, сукцинатов, их кислот, солей, эфиров и производных.

13. Способ по п. 9, где указанный разветвленный дегликозилированный гликан имеет терминальный лиганд из маннопиранозила.

14. Способ по п. 9, где указанный разветвленный дегликозилированный гликан выбирают из группы, состоящей из O-связанных-гликанов, Man_n, Gal_mMan_n, Gal_mMan_n, Glc_mMan_n, $Gal_jGlc_mMan_n$ и основных структур полиманнозила, j=1-8, m=1-8, n=1-8, их производных и комбинаций.

15. Способ по п. 9, где указанный разветвленный дегликозилированный гликан выбирают из одной или более групп, состоящих из N-связанных-гликанов, Man_nN-гликанов, Man_3N-гликанов, $Man_nGlcNAc_2$, $Man_{4-7}GlcNAc_{1-2}$, $Man_{1-24}GalNAc_{1-2}$, $Man_{1-3}GlcNAc_{1-2}$, $Man_{8-15}GlcNAc_{1-2}$, их производных и комбинаций, где n представляет собой число от 1 до 24.

16. Способ по п. 14, где указанный O-связанный-гликан в указанном композите гликана выбирают из группы, состоящей из арил-, ацил-, алкил(Gly)n, алкил$(Glc)_n$, алкил$(Man)_n$, метил$(Man)_n$, метил-D-Man_n, метил-D-Glc_n Man_2Gal, Man_2Gal_2, $ManGal_2$, Man_3, Man_3Gal, Man_2Glc и их комбинаций, где n=1-8.

17. Способ по п. 9, где указанный разветвленный дегликозилированный гликан выбирают из одной или более групп, состоящих из N-ацетилгликозаминил-терминальных лигандов, $Gal_{1-8}Man_{1-8}GlcNAc_2$, $Gal_4Man_{10}GlcNAc_2$, $GalNAc_{1-3}$, $GlcNAc_{1-3}$, $Man_{1-24}GlcNAc_{1-3}$, их производных и комбинаций.

18. Способ по п. 9, где указанное одно или более

координационных соединений переходных металлов$^{2+}$ включают как марганец Mn^{2+}, так и кальций Ca^{2+}, и где указанный один или более переходных металлов$^{2+}$ указанных координационных соединений переходных металлов$^{2+}$ включают один или более D-переходных металлов$^{2+}$, выбранных из группы, состоящей из Fe^{2+}, Co^{2+}, Ni^{2+} и Zn^{2+}.

19. Способ по п. 9, где указанный композит гликана дополнительно включает один или более консервантов.

20. Способ по п. 9, где указанные разветвленные дегликозилированные гликаны выбирают из одного или более ферментов инвертаз, денатурированных инвертаз, частично гидролизованных инвертаз и дегликозилированных инвертаз, и их смесей.

21. Способ по п. 9, где препарат композита гликана включает одно или более координационных соединений Ca^{2+}-Mn^{2+}-переходных металлов$^{2+}$ и один или более $GlcNAc_{1-3}$дегликозилированных гликанов.

22. Композит гликана по п. 1, где указанный композит гликана присутствует в количестве от 1 ppb до 1% по массе, и указанное одно или более координационных соединений переходных металлов$^{2+}$ присутствуют в количестве от 0,1 ppb до 1% по массе.

23. Композит гликана по п. 1, где указанный композит гликана присутствует в форме продукта концентрированной композиции с концентраций композита гликана в диапазоне от 10 ч/млн до 30% для разведения перед нанесением на фотосинтезирующие организмы сельскохозяйственных культур для повышения урожайности; где указанный композит гликана продукта концентрированной композиции включает один или более дегликозилированных гликанов в диапазоне концентраций от 1 ppm до 20% и одно или более координационных соединений переходных металлов$^{2+}$ в диапазоне концентраций 1 ч/млн. - 10% и консервант в диапазоне концентраций от 50 ч/млн. до 1%.

24. Способ по п. 9, где указанный фотосинтезирующий организм продуцирует нектар сока, и где указанный композит гликана наносят на указанный нектар сока.

25. Способ по п. 9, где указанный фотосинтезирующий организм представляет собой цветочное растение.

26. Способ по п. 20, где указанные частично гидролизованные инвертазы дегликозилируют с помощью лимонной кислоты.

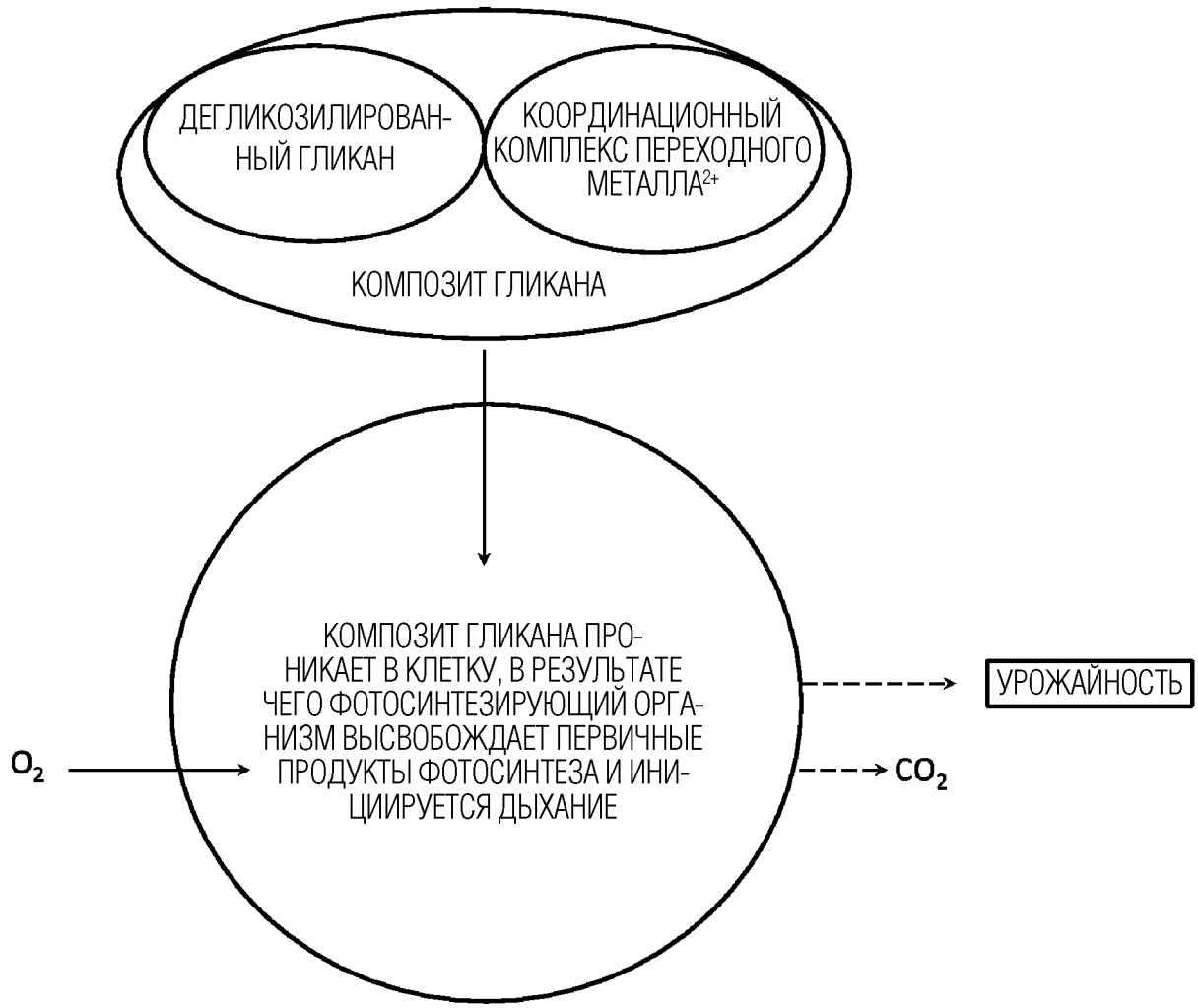
27. Способ по п. 9, где указанный фотосинтезирующий организм продуцирует первичные продукты фотосинтеза, и где указанный композит гликана наносят на указанный фотосинтезирующий организм для эндогенного улучшения вкусовых качеств.

28. Способ по п. 12, где указанные ускорители дыхания применяют совместно с O_2-генерирующими веществами, выбранными из группы, состоящей из H_2O_2, CaO_2 и MgO_2.

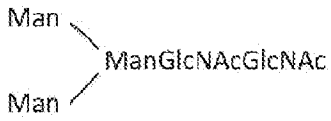
29. Способ по п. 9, где нанесение указанного композита гликана на указанный фотосинтезирующий организм осуществляется в количестве, эффективном для повышения гидростатического давления фотосинтезирующего организма.

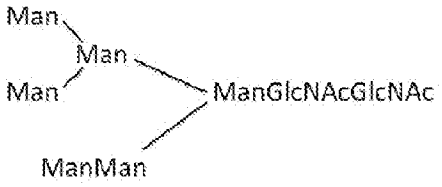
По доверенности

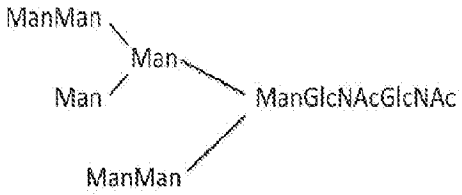
ФИГ. 1

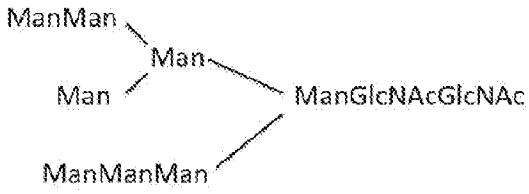

ДЕГЛИКОЗИЛИРОВАННЫЙ ГЛИКАН
КООРДИНАЦИОННЫЙ КОМПЛЕКС ПЕРЕХОДНОГО МЕТАЛЛА2+
КОМПОЗИТ ГЛИКАНА
КОМПОЗИТ ГЛИКАНА ПРОНИКАЕТ В КЛЕТКУ, В РЕЗУЛЬТАТЕ ЧЕГО ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИЙ ОРГАНИЗМ ВЫСВОБОЖДАЕТ ПЕРВИЧНЫЕ ПРОДУКТЫ ФОТОСИНТЕЗА И ИНИЦИИРУЕТСЯ ДЫХАНИЕ
O2
УРОЖАЙНОСТЬ
CO2

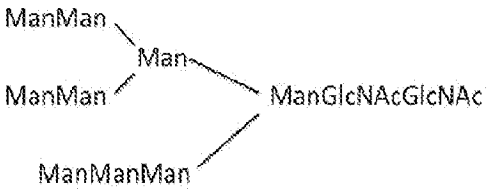
ФИГ. 2

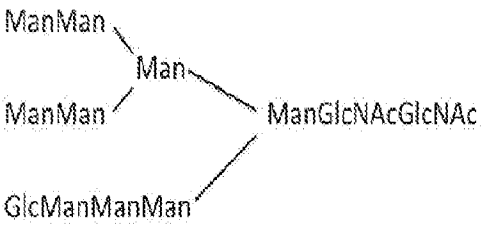

Man
Man
ManGlcNAcGlcNAc


Man
Man
Man
ManGlcNAcGlcNAc
ManMan


ManMan
Man
Man
ManGlcNAcGlcNAc
ManMan


ManMan
Man
Man
ManGlcNAcGlcNAc
ManManMan


ManMan
Man
ManMan
ManGlcNAcGlcNAc
ManManMan


ManMan
Man
ManMan
ManGlcNAcGlcNAc
GlcManManMan