

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202092677** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки
2021.08.04

(51) Int. Cl. *A01N 63/00* (2006.01)
C12N 15/113 (2010.01)
C12N 15/63 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2019.05.15

(54) **КОМПОЗИЦИИ ДЛЯ КОНТРОЛЯ ВРЕДИТЕЛЕЙ И ПУТИ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**

(31) **62/671,942; 62/676,142**

(32) **2018.05.15; 2018.05.24**

(33) **US**

(86) **PCT/US2019/032460**

(87) **WO 2019/222379 2019.11.21**

(71) Заявитель:
**ФЛЭГШИП ПАЙОНИРИНГ
ИННОВЕЙШНЗ VI, ЭлЭлСи (US)**

(72) Изобретатель:
**Ван Роен Мария Хелена Кристин,
Мартин Барри Эндрю, Там Хок Хей,
Фридлендер Джонатан, Мартинес
Игнасио, Нуколова Наталия
Владимировна, Швайцер Саймон,
Кабанильяс Дэниел Гарсия (US)**

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

(57) В данном документе раскрыты композиции для контроля вредителей, например биопестицидные или биорепеллентные, содержащие совокупность пакетов-мессенджеров растений (например, содержащие растительную внеклеточную везикулу (EV) или ее сегмент, часть или экстракт), которые пригодны в способах снижения приспособленности вредителей (например, сельскохозяйственных вредителей) и/или повышения приспособленности растения.

202092677

A1

A1

202092677

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-565832EA/061

КОМПОЗИЦИИ ДЛЯ КОНТРОЛЯ ВРЕДИТЕЛЕЙ И ПУТИ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Вредители растений, в том числе патогены растений (например, бактерии или грибы), беспозвоночные вредители (например, насекомые, моллюски и нематоды) и сорняки распространены в среде, окружающей человека. Хотя для контроля заражения этими вредителями использовалось множество способов, потребность в безопасных и эффективных стратегиях контроля вредителей возрастает. Таким образом, в данной области техники существует потребность в новых способах и композициях для контроля вредителей растений.

Краткое описание изобретения

В данном документе раскрыты композиции для контроля вредителей (например, биопестицидные или биорепеллентные), содержащие совокупность пакетов-мессенджеров растений (РМР), которые пригодны в способах снижения приспособленности вредителей (например, сельскохозяйственных вредителей) и/или повышения приспособленности растения.

В одном аспекте в настоящем изобретении предусмотрена композиция для контроля вредителей, содержащая совокупность пакетов-мессенджеров растений (РМР), где композиция составлена для доставки растению, и где композиция содержит по меньшей мере 5% РМР, как измерено по вес./об., процентному содержанию белков РМР в композиции и/или процентному содержанию липидов в композиции (например, посредством измерения флуоресцентно меченых липидов).

В другом аспекте в настоящем изобретении предусмотрена композиция для контроля вредителей, содержащая совокупность РМР, где композиция составлена для доставки вредителю растения, и где композиция содержит по меньшей мере 5% РМР.

В некоторых вариантах осуществления композиции для контроля вредителей композиция является стабильной в течение по меньшей мере одного дня при комнатной температуре и/или стабильна в течение по меньшей мере одной недели при 4°C. В других вариантах осуществления композиция является стабильной в течение по меньшей мере одного дня при комнатной температуре и/или стабильна в течение по меньшей мере одной недели при 4°C. В некоторых вариантах осуществления композиция составлена для доставки растению. В некоторых вариантах осуществления композиция составлена для доставки вредителю растения. В некоторых вариантах осуществления РМР являются стабильными в течение по меньшей мере 24 часов, 48 часов, семи дней или 30 дней. В других вариантах осуществления РМР являются стабильными при температуре, составляющей по меньшей мере 24°C, 20°C или 4°C. В еще одних вариантах осуществления совокупность РМР в композиции имеет концентрацию, эффективную для снижения приспособленности вредителя растения.

В другом аспекте в настоящем изобретении предусмотрена композиция для

контроля вредителей, содержащая совокупность РМР, где совокупность РМР в композиции имеет концентрацию, эффективную для снижения приспособленности вредителя растения.

В некоторых вариантах осуществления композиция составлена для доставки растению. В некоторых вариантах осуществления композиция составлена для доставки вредителю растения. В некоторых вариантах осуществления композиция является стабильной в течение по меньшей мере одного дня при комнатной температуре и/или стабильна в течение по меньшей мере одной недели при 4°C. В некоторых вариантах осуществления РМР включает совокупность белков РМР, и концентрация РМР представляет собой концентрацию в ней белков РМР. В других вариантах осуществления совокупность РМР в композиции имеет концентрацию, составляющую по меньшей мере 0,01 нг, 0,1 нг, 1 нг, 2 нг, 3 нг, 4 нг, 5 нг, 10 нг, 50 нг, 100 нг, 250 нг, 500 нг, 750 нг, 1 мкг, 10 мкг, 50 мкг, 100 мкг или 250 мкг белка РМР/мл. В еще одних вариантах осуществления композиция является стабильной в течение по меньшей мере одного дня при комнатной температуре и/или стабильна в течение по меньшей мере одной недели при 4°C.

В некоторых вариантах осуществления совокупность РМР в композиции имеет концентрацию, эффективную для снижения приспособленности вредителя растения. В некоторых вариантах осуществления растительная EV представляет собой модифицированную растительную внеклеточную везикулу (EV). В некоторых вариантах осуществления растительная EV представляет собой растительную экзосому или растительную микровезикулу. В некоторых вариантах осуществления совокупность РМР дополнительно содержит репеллент против вредителей.

В одном аспекте в настоящем изобретении предусмотрена композиция для контроля вредителей, содержащая совокупность РМР, где каждый РМР из совокупности РМР содержит гетерологичное пестицидное средство, и где композиция составлена для доставки растению или вредителю растения.

В некоторых вариантах осуществления гетерологичное пестицидное средство представляет собой гербицидное средство, противобактериальное средство, противогрибковое средство, инсектицидное средство, моллюскицидное средство или нематоцидное средство.

В некоторых вариантах осуществления гербицидное средство представляет собой доксорубин. В других вариантах осуществления гербицидное средство представляет собой глюфосинат, глифосат, пропаквизафоп, метамитрон, метазахлор, пендиметалин, флуфенацет, дифлуфеникан, кломазон, никосульфурон, мезотрион, пиноксаден, сулькотрион, просульфокарб, сульфентразон, бифенокс, квинмерак, триаллат, тербутилазин, атразин, оксифлуорфен, диурон, трифлуралин или хлортолурун.

В некоторых вариантах осуществления противобактериальное средство представляет собой доксорубин. В некоторых вариантах осуществления противобактериальное средство представляет собой антибиотик. В некоторых вариантах осуществления антибиотик представляет собой ванкомицин. В других вариантах

осуществления антибиотик представляет собой пенициллин, цефалоспорин, тетрациклин, макролид, сульфонамид, ванкомицин, полимиксин, грамицидин, хлорамфеникол, клиндамицин, спектиномицин, ципрофлоксацин, изониазид, рифампицин, пиперазид, этамбутол, миамбутол или стрептомицин. В некоторых вариантах осуществления противогрибковое средство представляет собой азоксистробин, манкозеп, протиокназол, фолпет, тебуконазол, дифеноконазол, каптан, бупиримат или фозетил-А1. В некоторых вариантах осуществления инсектицидное средство представляет собой хлорникотинил, неоникотиноид, карбамат, органофосфат, пиретроид, оксадиазин, спинозин, циклодиен, хлорорганическое соединение, фипрол, мектин, диацилгидразин, бензоилмочевину, органотин, пиррол, динитротерпенол, МЕТ1, тетрановую кислоту, тетрамовую кислоту или фталамид. В некоторых вариантах осуществления гетерологичное пестицидное средство представляет собой небольшую молекулу, нуклеиновую кислоту или полипептид. В некоторых вариантах осуществления небольшая молекула представляет собой антибиотик или вторичный метаболит. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота представляет собой ингибирующую РНК. В некоторых вариантах осуществления гетерологичное пестицидное средство инкапсулировано каждым из РМР из совокупности РМР; встроено в поверхность каждого РМР из совокупности РМР; или конъюгировано с поверхностью каждого РМР из совокупности РМР.

В некоторых вариантах осуществления каждый РМР из совокупности РМР дополнительно содержит репеллент против вредителей. В некоторых вариантах осуществления каждый РМР из совокупности РМР дополнительно содержит дополнительное гетерологичное пестицидное средство.

В некоторых вариантах осуществления вредитель растения представляет собой бактерию или грибок. В некоторых вариантах осуществления бактерия представляет собой вид *Pseudomonas*, например, *Pseudomonas aeruginosa* или *Pseudomonas syringae*. В некоторых вариантах осуществления грибок представляет собой вид *Sclerotinia*, вид *Botrytis*, вид *Aspergillus*, вид *Fusarium* или вид *Penicillium*. В других вариантах осуществления вредитель растения представляет собой насекомое, например, тлю или чешуекрылое; моллюска; или нематоду, например, кукурузную корневую галловую нематоду.

В некоторых вариантах осуществления композиция является стабильной в течение по меньшей мере одного дня при комнатной температуре и/или стабильна в течение по меньшей мере одной недели при 4°C. В некоторых вариантах осуществления РМР являются стабильными в течение по меньшей мере 24 часов, 48 часов, семи дней или 30 дней при 4°C. В других вариантах осуществления РМР являются стабильными при температуре, составляющей по меньшей мере 20°C, 24°C или 37°C.

В некоторых вариантах осуществления совокупность РМР в композиции имеет концентрацию, эффективную для снижения приспособленности вредителя растения.

В некоторых вариантах осуществления совокупность РМР в композиции имеет концентрацию, составляющую по меньшей мере 0,01 нг, 0,1 нг, 1 нг, 2 нг, 3 нг, 4 нг, 5 нг, 10 нг, 50 нг, 100 нг, 250 нг, 500 нг, 750 нг, 1 мкг, 10 мкг, 50 мкг, 100 мкг или 250 мкг белка

РМР/мл.

В некоторых вариантах осуществления композиция содержит приемлемый с точки зрения сельского хозяйства носитель; составленный для стабилизации РМР; или составленный в виде жидкой, твердой, аэрозольной, пастообразной, гелеобразной или газообразной композиции.

В некоторых вариантах осуществления композиция содержит по меньшей мере 5% РМР.

В другом аспекте в настоящем изобретении предусмотрена композиция для контроля вредителей, содержащая совокупность РМР, где РМР выделены из растения с помощью способа, который включает стадии (а) получения исходного образца из растения или его части, где растение или его часть содержат EV; (b) выделения фракции неочищенных РМР из исходного образца, где фракция неочищенных РМР содержит пониженный уровень по меньшей мере одного контаминанта или нежелательного компонента из растения или его части по сравнению с уровнем в исходном образце; (с) очистки фракции неочищенных РМР с получением совокупности чистых РМР, где совокупность чистых РМР содержит пониженный уровень по меньшей мере одного контаминанта или нежелательного компонента из растения или его части по сравнению с уровнем во фракции неочищенных EV; (d) загрузки совокупности чистых РМР со средством контроля вредителей; и (е) составления РМР из стадии (d) для доставки растению или вредителю растения.

В другом аспекте настоящего изобретения предусмотрено растение, содержащее любую из композиций для контроля вредителей, предусмотренных в данном документе.

В еще одном аспекте настоящего изобретения предусмотрено растение, содержащее любую из композиций для контроля вредителей, предусмотренных в данном документе.

В еще одном аспекте в настоящем изобретении предусмотрен способ доставки композиции для контроля вредителей растению, включающий приведение растения в контакт с любой из композиций, описанных в данном документе.

И в еще одном аспекте в настоящем изобретении предусмотрен способ повышения приспособленности растения, при этом способ предусматривает доставку растению любой из композиций, описанных в данном документе, где способ повышает приспособленность растения по сравнению с необработанным растением.

В некоторых вариантах осуществления растение заражено вредителем растения. В некоторых вариантах осуществления способ снижает заражение по сравнению с заражением необработанного растения. В некоторых вариантах осуществления способ в значительной степени устраняет заражение по сравнению с заражением необработанного растения.

В некоторых вариантах осуществления растение восприимчиво к заражению вредителем растения. В некоторых вариантах осуществления способ снижает вероятность заражения растения по сравнению с вероятностью заражения необработанного растения.

В некоторых вариантах осуществления вредитель растения представляет собой бактерию, например, вид *Pseudomonas*; или гриб, например, вид *Sclerotinia*, вид *Botrytis*, вид *Aspergillus*, вид *Fusarium* или вид *Penicillium*.

В других вариантах осуществления вредитель растения представляет собой насекомое, например, тлю или чешуекрылое; моллюска; или нематоду, например, кукурузную корневую галловую нематоду.

В некоторых вариантах осуществления композиция для контроля вредителей доставляется в виде жидкости, твердого вещества, аэрозоля, пасты, геля или газа.

В другом аспекте в настоящем изобретении предусмотрен способ доставки композиции для контроля вредителей вредителю растения, предусматривающий приведение вредителя растения в контакт с любой из композиций, описанных в данном документе.

В другом аспекте в настоящем изобретении предусмотрен способ снижения приспособленности вредителя растения, при этом способ предусматривает доставку вредителю растения любой из композиций, описанных в данном документе, где способ снижает приспособленность вредителя растения по сравнению с необработанным вредителем растения.

В некоторых вариантах осуществления способ предусматривает доставку композиции в по меньшей мере одну среду обитания, где вредитель растения растет, живет, размножается, питается или осуществляет заражение. В некоторых вариантах осуществления композицию доставляют в виде композиции, съедобной для вредителя растения, для поглощения вредителем растения.

В некоторых вариантах осуществления вредитель растения представляет собой бактерию или гриб. В других вариантах осуществления вредитель растения представляет собой насекомое, например, тлю или чешуекрылое; моллюска; или нематоду, например, кукурузную корневую галловую нематоду. В некоторых вариантах осуществления композиция доставляется в виде жидкости, твердого вещества, аэрозоля, пасты, геля или газа.

В другом аспекте в настоящем изобретении предусмотрен способ обработки растения, пораженного грибковой инфекцией, где способ предусматривает доставку растению композиции для контроля вредителей, содержащей совокупность РМР.

В еще одном аспекте в настоящем изобретении предусмотрен способ обработки растения, пораженного грибковой инфекцией, где способ предусматривает доставку растению композиции для контроля вредителей, содержащей совокупность РМР, и где каждый из совокупности РМР содержит противогрибковое средство. В некоторых вариантах осуществления противогрибковое средство представляет собой нуклеиновую кислоту, которая подавляет экспрессию гена гриба, вызывающего грибковую инфекцию. В некоторых вариантах осуществления ген представляет собой *dcl1* и/или *dcl2*. В некоторых вариантах осуществления грибковая инфекция вызвана грибом принадлежащим к виду *Sclerotinia*, например, *Sclerotinia sclerotiorum*; виду *Botrytis*,

например, *Botrytis cinerea*; виду *Aspergillus*; виду *Fusarium*; или виду *Penicillium*. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит РМР, полученный из растения рода *Arabidopsis*. В некоторых вариантах осуществления способ снижает или в значительной степени устраняет грибковую инфекцию.

В другом аспекте в настоящем изобретении предусмотрен способ обработки растения, пораженного бактериальной инфекцией, где способ предусматривает доставку растению композиции для контроля вредителей, содержащей совокупность РМР.

В еще одном аспекте в настоящем изобретении предусмотрен способ обработки растения, пораженного бактериальной инфекцией, где способ предусматривает доставку растению композиции для контроля вредителей, содержащей совокупность РМР, и где каждый РМР из совокупности РМР содержит противобактериальное средство. В некоторых вариантах осуществления противобактериальное средство представляет собой доксорубицин. В некоторых вариантах осуществления бактериальная инфекция вызывается бактерией, принадлежащей к виду *Pseudomonas*, например, *Pseudomonas syringae*. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит РМР, полученный из растения рода *Arabidopsis*. В некоторых вариантах осуществления способ снижает или в значительной степени устраняет бактериальную инфекцию.

В другом аспекте в настоящем изобретении предусмотрен способ снижения приспособленности насекомого-вредителя растения, где способ предусматривает доставку насекомому-вредителю растения композиции для контроля вредителей, содержащей совокупность РМР.

В еще одном аспекте в настоящем изобретении предусмотрен способ снижения приспособленности насекомого-вредителя растения, где способ предусматривает доставку насекомому-вредителю растения композиции для контроля вредителей, содержащей совокупность РМР, и где каждый РМР из совокупности РМР содержит инсектицидное средство. В некоторых вариантах осуществления инсектицидное средство представляет собой пептидную нуклеиновую кислоту.

В некоторых вариантах осуществления насекомое-вредитель растения представляет собой тлю. В некоторых вариантах осуществления насекомое-вредитель растения представляет собой чешуекрылое, например, *Spodoptera frugiperda*. В некоторых вариантах осуществления способ снижает приспособленность насекомого-вредителя растения по сравнению с необработанным насекомым-вредителем растения.

В другом аспекте в настоящем изобретении предусмотрен способ снижения приспособленности нематоды-вредителя растения, где способ предусматривает доставку нематоды-вредителю растения композиции для контроля вредителей, содержащей совокупность РМР.

В другом аспекте в настоящем изобретении предусмотрен способ снижения приспособленности нематоды-вредителя растения, где способ предусматривает доставку нематоды-вредителю растения композиции для контроля вредителей, содержащей совокупность РМР, и где каждый РМР из совокупности РМР содержит нематоцидное

средство.

В некоторых вариантах осуществления нематоцидное средство представляет собой пептид, например, Mi-NLP-15b. В некоторых вариантах осуществления нематода-вредитель растения представляет собой кукурузную корневую галловую нематоду. В некоторых вариантах осуществления способ снижает приспособленность нематоды-вредителя растения по сравнению с необработанной нематодой-вредителем растения.

В другом аспекте в настоящем изобретении предусмотрен способ снижения приспособленности сорняка, где способ предусматривает доставку сорняку композиции для контроля вредителей, содержащей совокупность РМР.

В другом аспекте в настоящем изобретении предусмотрен способ снижения приспособленности сорняка, при этом способ предусматривает доставку сорняку композиции для контроля вредителей, содержащей совокупность РМР, и где каждый РМР из совокупности РМР содержит гербицидное средство. В некоторых вариантах осуществления способ снижает приспособленность сорняка по сравнению с необработанным сорняком. Другие характеристики и преимущества настоящего изобретения будут очевидны из следующего подробного описания и формулы изобретения.

Определения

Используемый в данном документе термин "композиция для контроля вредителей" относится к биопестицидной или биорепеллентной композиции, которая содержит совокупность пакетов-мессенджеров растений (РМР). Каждый РМР из совокупности РМР может содержать пестицидное средство, например, гетерологичное пестицидное средство.

Используемый в данном документе термин "биопестицидная композиция" относится к пестицидной композиции, которая содержит совокупность пакетов-мессенджеров растений (РМР).

Используемый в данном документе термин "биорепеллентная композиция" относится к репеллентной композиции для контроля вредителей, которая содержит совокупность пакетов-мессенджеров растений (РМР).

Используемые в данном документе термины "доставка" или "приведение в контакт" относятся к нанесению на растение или вредителя растения композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной) либо непосредственно на растение или вредителя растения, либо рядом с растением или вредителем растения в участке, где композиция является эффективной для изменения приспособленности растения или вредителя растения. В способах, где композиция находится в непосредственном контакте с растением, композиция может быть приведена в контакт со всем растением или только с частью растения.

Используемый в данном документе термин "снижение приспособленности вредителя растения" относится к любому нарушению физиологии вредителя или любой активности, осуществляемой указанным вредителем, как следствие введения композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной), описанной в

данном документе, в том числе без ограничения любому одному или нескольким из следующих желаемых эффектов: (1) уменьшению популяции вредителя на приблизительно 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 99%, 100% или больше; (2) снижению скорости размножения вредителя (например, насекомого) на приблизительно 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 99%, 100% или больше; (3) снижению подвижности вредителя на приблизительно 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 99%, 100% или больше; (4) снижению массы тела вредителя на приблизительно 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 99%, 100% или больше; (5) снижению скорости метаболизма или активности вредителя на приблизительно 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 99%, 100% или больше или (6) снижению заражения растения вредителем на приблизительно 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 99%, 100% или больше. Снижение приспособленности вредителей может быть определено по сравнению с вредителем, которому не была введена композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная).

Используемый в данном документе термин "составленный для доставки растению или вредителю растения" относится к композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной), которая содержит приемлемый с точки зрения сельского хозяйства носитель.

Используемый в данном документе термин "заражение" относится к присутствию нежелательных вредителей на растении, например, к колонизации или заражению растения, его части или среды обитания, окружающей растение, вредителем растения, в частности, когда заражение снижает приспособленность растения. "Снижение заражения" или "обработка заражения" относятся к снижению количества вредителей на растении или вокруг него (например, на приблизительно 1%, 2%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 100%) или снижению выраженности симптомов или признаков у растения, которые непосредственно или опосредованно вызваны вредителем (например, на приблизительно 1%, 2%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 100%), по сравнению с необработанным растением. Заражение или ассоциированные симптомы можно идентифицировать любыми способами идентификации заражения или связанных симптомов. Например, снижение заражения одной или нескольких частей растения может быть представлено в количестве, достаточном для "существенного устранения" заражения, что относится к снижению заражения в количестве, достаточном для устойчивого устранения симптомов и/или повышения приспособленности растений по сравнению с необработанным растением.

Используемый в данном документе термин "повышение приспособленности растения" относится к повышению продуктивности растения, например, к повышению урожайности, повышению жизнеспособности растения или качества собранного с растения продукта. Повышение урожайности растения относится к повышению урожайности продукта (например, измеряемой по биомассе растения, урожаю зерна,

семян или фруктов, содержанию белка, содержанию углеводов или масел, или площади листьев) растения на измеримое количество по сравнению с урожайностью того же продукта растения, полученного в тех же условиях, но без применения композиций по настоящему изобретению или по сравнению с применением общепринятых пестицидов. Например, урожайность может быть повышена на по меньшей мере приблизительно 0,5%, приблизительно 1%, приблизительно 2%, приблизительно 3%, приблизительно 4%, приблизительно 5%, приблизительно 10%, приблизительно 20%, приблизительно 30%, приблизительно 40%, приблизительно 50%, приблизительно 60%, приблизительно 70%, приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 100% или более 100%. Урожайность может быть выражена в терминах количества по массе или объему растения или продукта растения на некоторой основе. Основа может быть выражена в терминах времени, площади выращивания, веса полученных растений или количества используемого сырья. Повышение жизнеспособности растения также можно измерять другими средствами, такими как повышение или улучшение показателя жизнеспособности, насаждения (количества растений на единицу площади), высоты растения, окружности стебля, яруса листового полога, внешнего вида (например, более зеленый цвет листьев), оценка корней, всхожесть, содержание белка, повышенное кущение, более крупные листья, большее количество листьев, меньшее количество мертвых прикорневых листьев, более сильные побеги, потребность в меньшем количестве удобрений, потребность в меньшем количестве семян, более продуктивные побеги, более раннее цветение, ранняя зрелость зерна или семян, меньшая ломкость растений (полегание), усиленный рост побегов, более раннее прорастание или любая комбинация этих факторов на измеримую или заметную величину по сравнению с тем же фактором растения, выращенного в тех же условиях, но без введения композиций по настоящему изобретению или с применением общепринятых пестицидов.

Определенные в данном документе термины "нуклеиновая кислота" и "полинуклеотид" являются взаимозаменяемыми и относятся к РНК или ДНК, которые являются линейными или разветвленными, одно- или двухнитевыми, или их гибридами, независимо от длины (например, по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 150, 200, 250, 500, 1000 или более нуклеиновых кислот). Термин также охватывает гибриды РНК/ДНК. Как правило, нуклеотиды в нуклеиновой кислоте связаны посредством фосфодиэфирных связей, хотя термин "нуклеиновая кислота" также охватывает аналоги нуклеиновых кислот, имеющие другие типы связей или остовов (например, фосфорамидные, фосфотиоатные, фосфодитиоатные, O-метилфосфорамидатные, морфолиновые, запертые нуклеиновые кислоты (LNA), глицериновые нуклеиновые кислоты (GNA), нуклеиновые кислоты с треозой (TNA) и связи или остовы пептидных нуклеиновых кислот (PNA), среди прочего). Нуклеиновые кислоты могут быть одонитевыми, двухнитевыми или содержать части как одонитевой, так и двухнитевой последовательности. Нуклеиновая кислота может содержать любую комбинацию дезоксирибонуклеотидов и рибонуклеотидов, а также любую комбинацию

оснований, в том числе, например, аденин, тимин, цитозин, урацил и модифицированные или неканонические основания (в том числе, например, гипоксантин, ксантин, 7-метилгуанин, 5,6-дигидроурацил, 5-метилцитозин и 5-гидроксиметилцитозин).

Используемый в данном документе термин "вредитель" относится к организмам, которые причиняют вред растениям или другим организмам, присутствуют там, где они нежелательны, или иным образом наносят ущерб людям, например, воздействуя на способы или продукты сельского хозяйства людей. Вредители могут включать, например, беспозвоночных (например, насекомых, нематод или моллюсков), микроорганизмы (например, фитопатогены, эндофиты, облигатные паразиты, факультативные паразиты или факультативные сапрофиты), таких как бактерии, грибы или вирусы; или сорняки.

Используемые в данном документе термины "пестицидное средство" или "пестицид" относятся к средству, композиции или веществу в их составе, которые контролируют или снижают приспособленность (например, уничтожают или ингибируют рост, пролиферацию, деление, размножение или распространение) сельскохозяйственных, экологических или домашних/бытовых вредителей, таких как насекомое, моллюск, нематода, гриб, бактерия или вирус. Под пестицидами понимают встречающиеся в природе или синтетические инсектициды (ларвициды или адультициды), регуляторы роста насекомых, акарициды (митициды), моллюскициды, нематоциды, эктопаразитициды, бактерициды, фунгициды или гербициды. Термин "пестицидное средство" может дополнительно охватывать другие биологически активные молекулы, такие как антибиотики, противовирусные средства, пестициды, противогрибковые средства, противогельминтные средства, питательные вещества и/или средства, которые останавливают или замедляют движение насекомых. В некоторых случаях пестицид представляет собой аллелохимическое вещество. Используемый в данном документе термин "аллелохимикат" или "аллелохимическое средство" представляет собой вещество, продуцируемое организмом (например, растением), которое способно воздействовать на физиологическую функцию (например, зарождение, рост, выживаемость или размножение) другого организма (например, вредителя).

Пестицидное средство может быть гетерологичным. Используемый в данном документе термин "гетерологичный" относится к средству (например, пестицидному средству), которое является (1) экзогенным в отношении растения (например, получено из источника, который не является растением или частью растения, из которых получен РМР) (например, добавлено к РМР с использованием подходов для загрузки, описанных в данном документе) или (2) эндогенным в отношении растительной клетки или ткани, из которых получен РМР, но присутствует в РМР (например, добавлено к РМР с использованием подходов для загрузки, описанных в данном документе, генетической инженерии, подходов *in vitro* или *in vivo*) в концентрации, которая выше, чем обнаруженная в природе (например, выше, чем концентрация, обнаруженная во встречающейся в природе внеклеточной растительной везикуле).

Используемый в данном документе термин "репеллент" относится к средству,

композиции или веществу в их составе, которые удерживают вредителей от приближения к растению или сохранения на нем. Репеллент может, например, уменьшать количество вредителей на растении или в непосредственной близости от него, но не обязательно уничтожать или снижать приспособленность вредителя.

Используемый в данном документе термин "пептид", "белок" или "полипептид" охватывает любую цепь из встречающихся в природе или не встречающихся в природе аминокислот (как D-, так и L-аминокислот) независимо от длины (например, по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25, 30, 40, 50, 100 или больше аминокислот), наличия или отсутствия посттрансляционных модификаций (например, гликозилирования или фосфорилирования) или наличия, например, одной или нескольких групп, отличных от аминокислотных (например, углеводных, липидных и т. д.), ковалентно связанных с пептидом, и включает, например, природные белки, синтетические или рекомбинантные полипептиды и пептиды, гибридные молекулы, пептоиды или пептидомиметики.

Как используется в данном документе, "процент идентичности" между двумя последовательностями определяют с помощью алгоритма BLAST 2.0, который описан в Altschul et al., (1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-410. Программное обеспечение для проведения анализов BLAST общедоступно благодаря Национальному центру биотехнологической информации.

Используемый в данном документе термин "растение" относится к целым растениям, органам растений, растительным тканям, растительным клеткам, семенам и их потомству. Растительные клетки включают без ограничения клетки из семян, суспензионных культур, зародышей, участков меристем, каллюсной ткани, листьев, корней, побегов, гаметофитов, спорофитов, пыльцы и микроспор. Части растений включают дифференцированные и недифференцированные ткани, в том числе без ограничения корни, стебли, побеги, листья, пыльцу, семена, плоды, собранный продукт, опухолевую ткань, сок (например, ксилемный сок и флоэмный сок) и различные формы клеток и культуры (например, отдельные клетки, протопласты, зародыши и каллюсная ткань). Растительная ткань может находиться в растении или в органе, ткани или культуре клеток растения. Кроме того, растение может быть генетически сконструированным для получения гетерологичного белка или РНК, например, любой из композиций для контроля вредителей (биопестицидной или биорепеллентной) в способах или композициях, описанных в данном документе.

Используемые в данном документе термины "растительная внеклеточная везикула", "растительная EV" или "EV" относятся к замкнутой структуре из бислоя липидов, встречающейся в природе в растении. Необязательно, растительная EV содержит один или несколько маркеров растительной EV. Используемый в данном документе термин "маркер растительной EV" относится к компоненту, который в природе ассоциирован с растением, такому как растительный белок, растительная нуклеиновая кислота, растительная небольшая молекула, растительный липид или их комбинации, в том числе без ограничения любому из маркеров растительной EV, перечисленных в

приложении. В некоторых случаях маркер растительной EV представляет собой идентифицирующий маркер растительной EV, но не пестицидное средство. В некоторых случаях маркер растительной EV представляет собой идентифицирующий маркер растительной EV, а также пестицидное средство (например, либо ассоциирован с совокупностью РМР, или инкапсулирован ей, либо не непосредственно ассоциирован с совокупностью РМР или инкапсулирован ей).

Используемый в данном документе термин "пакет-мессенджер растений" или "РМР" относится к липидной структуре (например, из бислоя липидов, униламеллярной, мультиламеллярной структуре; например, везикулярной липидной структуре), диаметр которой составляет приблизительно 5-2000 нм (например, по меньшей мере 5-1000 нм, по меньшей мере 5-500 нм, по меньшей мере 400-500 нм, по меньшей мере 25-250 нм, по меньшей мере 50-150 нм или по меньшей мере 70-120 нм), которая получена из (например, обогащена, выделена или очищена из) растительного источника или его сегмента, части или экстракта, включая липидные компоненты или компоненты, отличные от липидов (например, пептиды, нуклеиновые кислоты или небольшие молекулы), ассоциированные с ними, и которая была обогащена, выделена или очищена из растения, части растения или растительной клетки, при этом при обогащении или выделении удаляется один или нескольких контаминантов или нежелательных компонентов из исходного растения. РМР могут представлять собой высокоочищенные препараты встречающихся в природе EV. Предпочтительно по меньшей мере 1% контаминантов или нежелательных компонентов из исходного растения удаляется (например, по меньшей мере 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 98%, 99% или 100%) из одного или нескольких контаминантов или нежелательных компонентов из исходного растения, например, компонентов растительной клеточной стенки; пектина; растительных органелл (например, митохондрий; пластид, таких как хлоропласты, лейкопласты или амилопласты; и ядер); растительного хроматина (например, растительной хромосомы); или растительных молекулярных агрегатов (например, белковых агрегатов, агрегатов белок-нуклеиновая кислота, липопротеиновых агрегатов или липидопротеиновых структур). Предпочтительно, РМР является на по меньшей мере 30% чистым (например, на по меньшей мере 40% чистым, по меньшей мере 50% чистым, по меньшей мере 60% чистым, по меньшей мере 70% чистым, по меньшей мере 80% чистым, по меньшей мере 90% чистым, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 100% чистым) по сравнению с одним или несколькими контаминантами или нежелательными компонентами из исходного растения, как измерено по весу (вес/вес), спектральной визуализации (% пропускания) или проводимости (См/м).

РМР могут необязательно содержать дополнительные средства, такие как гетерологичные функциональные средства, например, пестицидные средства, удобрения, средства, модифицирующие растения, терапевтические средства, полинуклеотиды, полипептиды или небольшие молекулы. РМР могут нести дополнительные средства или могут быть ассоциированы с ними (например, гетерологичными функциональными

средствами) различными путями для обеспечения доставки средства целевому растению, например, посредством инкапсулирования средства, включения средства в структуру из бислоя липидов или ассоциации средства (например, посредством конъюгации) с поверхностью структуры из бислоя липидов. Гетерологичные функциональные средства могут быть включены в РМР либо *in vivo* (например, *in planta*), либо *in vitro* (например, в культуре ткани, в культуре клеток или включены синтетическим путем).

Используемый в данном документе термин "стабильная композиция на основе РМР" (например, композиция, содержащая загруженные или незагруженные РМР) относится к композиции на основе РМР, которая в течение периода времени (например, по меньшей мере 24 часов, по меньшей мере 48 часов, по меньшей мере 1 недели, по меньшей мере 2 недель, по меньшей мере 3 недель, по меньшей мере 4 недель, по меньшей мере 30 дней, по меньшей мере 60 дней или по меньшей мере 90 дней) сохраняет по меньшей мере 5% (например, по меньшей мере 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100%) от исходного количества РМР (например, РМР на мл раствора) по сравнению с количеством РМР в композиции на основе РМР (например, во время получения или составления), необязательно в определенном диапазоне температуры (например, температуре, составляющей по меньшей мере 24°C (например, по меньшей мере 24°C, 25°C, 26°C, 27°C, 28°C, 29°C или 30°C), по меньшей мере 20°C (например, по меньшей мере 20°C, 21°C, 22°C или 23°C), по меньшей мере 4°C (например, по меньшей мере 5°C, 10°C или 15°C), по меньшей мере -20°C (например, по меньшей мере -20°C, -15°C, -10°C, -5°C или 0°C) или -80 °C (например, по меньшей мере -80°C, -70°C, -60°C, -50°C, -40°C или -30°C)); или сохраняет по меньшей мере 5% (например, по меньшей мере 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100%) своей активности (например, пестицидной и/или репеллентной активности) по сравнению с исходной активностью РМР (например, во время получения или составления), необязательно в определенном диапазоне температуры (например, при температуре, составляющей по меньшей мере 24°C (например, по меньшей мере 24°C, 25°C, 26°C, 27°C, 28°C, 29°C или 30°C), по меньшей мере 20°C (например, по меньшей мере 20°C, 21°C, 22°C или 23°C), по меньшей мере 4°C (например, по меньшей мере 5°C, 10°C или 15°C), по меньшей мере -20°C (например, по меньшей мере -20°C, -15°C, -10°C, -5°C или 0°C) или -80°C (например, по меньшей мере -80°C, -70°C, -60°C, -50°C, -40°C или -30°C)).

Используемый в данном документе термин "необработанный" относится к растению или вредителю растения, которые не были приведены в контакт с композицией для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной) или которым она не была доставлена, включая отдельное растение, которому не была доставлена композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная), при этом то же самое растение подвергается обработке, оцениваемой в момент времени до доставки композиций для контроля вредителей (например, биопестицидных или

биорепеллентных), или то же самое растение подвергается обработке, оцениваемой на необработанной части растения.

Используемые в данном документе термины "соковый мешочек" или "соковая везикула" относятся к содержащему сок связанному с мембраной компоненту эндокарпия (плодолистика) гесперидия, например, плода цитрусовых. В некоторых аспектах соковые мешочки отделены от других частей плода, например, кожуры (экзокарпия или флаведо), внутренней кожуры (мезокарпия, альbedo или сердцевины), центрального столбика (плаценты), стенок сегментов или семян. В некоторых аспектах соковые мешочки представляют собой соковые мешочки грейпфрута, лимона, лайма или апельсина.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Фиг. 1А представляет собой схематическую диаграмму, на которой показан протокол получения РМР грейпфрута с использованием стадии деструктивного выжимания сока, включающей использование измельчителя, с последующими ультрацентрифугированием и очисткой в градиенте сахарозы. Включены изображения грейпфрутового сока после центрифугирования при $1000\times g$ в течение 10 мин и паттерн полос градиента сахарозы после ультрацентрифугирования при $150000\times g$ в течение 2 часов.

Фиг. 1В представляет собой график распределения РМР-частиц, измеренного с помощью Spectradyne NCS1.

Фиг. 2 представляет собой схематическую диаграмму, демонстрирующую протокол получения РМР грейпфрута с использованием стадии мягкого выжимания сока, включающей использование сетчатого фильтра, с последующим ультрацентрифугированием и очисткой в градиенте сахарозы. Включены изображения грейпфрутового сока после центрифугирования при $1000\times g$ в течение 10 мин и паттерн полос градиента сахарозы после ультрацентрифугирования при $150000\times g$ в течение 2 часов.

Фиг. 3А представляет собой схематическую диаграмму, демонстрирующую протокол получения РМР грейпфрута с использованием ультрацентрифугирования с последующей эксклюзионной хроматографией (SEC) с выделением фракций, содержащих РМР. Элюированные фракции SEC анализировали в отношении концентрации частиц (NanoFCM), медианного размера частиц (NanoFCM) и концентрации белка (BCA).

Фиг. 3В представляет собой график, демонстрирующий концентрацию частиц на мл в элюированных фракциях эксклюзионной хроматографии (SEC) (NanoFCM). Фракции, содержащие большую часть РМР ("фракция РМР"), отмечены стрелкой. РМР элюируются во фракциях 2-4.

Фиг. 3С представляет собой набор графиков и таблицу, демонстрирующих размер частиц в нм для отобранных фракций SEC, измеренный с использованием NanoFCM. На графиках показано распределение РМР по размеру во фракциях 1, 3, 5 и 8.

Фиг. 3D представляет собой график, демонстрирующий концентрацию белка в мкг/мл во фракциях SEC, измеренную с помощью BCA-анализа. Фракция, содержащая

большую часть РМР ("фракция РМР"), помечена, а стрелка указывает на фракцию, содержащую контаминанты.

Фиг. 4А представляет собой схематическую диаграмму, демонстрирующую протокол для масштабированного получения РМР из 1 литра грейпфрутового сока (~7 грейпфрутов) с использованием соковыжималки с последующим дифференциальным центрифугированием для удаления крупного дебриса, 100× концентрации сока с использованием TFF и эксклюзионной хроматографии (SEC) с выделением фракций, содержащих РМР. Элюированные фракции SEC анализировали в отношении концентрации частиц (NanoFCM), медианного размера частиц (NanoFCM) и концентрации белка (BCA).

Фиг. 4В представляет собой пару графиков, демонстрирующих концентрацию белка (BCA-анализ, верхняя панель) и концентрацию частиц (NanoFCM, нижняя панель) в объеме элюата SEC (мл) из масштабированного исходного материала, составляющем 1000 мл грейпфрутового сока, демонстрирующего большое количество контаминантов в поздних объемах элюирования SEC.

Фиг. 4С представляет собой график, демонстрирующий, что инкубация фракции неочищенных РМР грейпфрута с конечной концентрацией EDTA, составляющей 50 мМ, рН 7,15, с последующим диализом в течение ночи с использованием мембраны 300 кДа приводила к успешному удалению контаминантов, присутствующих во фракциях позднего элюирования SEC, как показано по поглощению при 280 нм. Не было разницы в используемых буферах для диализа (PBS без кальция/магния, рН 7,4, MES рН 6, Tris рН 8,6).

Фиг. 4D представляет собой график, демонстрирующий, что инкубация фракции неочищенных РМР грейпфрута с конечной концентрацией EDTA, составляющей 50 мМ, рН 7,15, с последующим диализом в течение ночи с использованием мембраны 300 кДа приводила к успешному удалению контаминантов, присутствующих во фракциях позднего элюирования после SEC, как показано с помощью BCA-анализа белка, который, помимо выявления белка, чувствителен к присутствию сахаров и пектинов. Не было разницы в используемых буферах для диализа (PBS без кальция/магния, рН 7,4, MES рН 6, Tris рН 8,6).

Фиг. 5А представляет собой схематическую диаграмму, демонстрирующую протокол получения РМР из грейпфрутового сока с использованием соковыжималки с последующим дифференциальным центрифугированием для удаления крупного дебриса, инкубацией с EDTA для снижения образования макромолекул пектина, последовательной фильтрацией для удаления крупных частиц, 5× концентрацией/промывкой TFF, диализом в течение ночи для удаления контаминантов, дальнейшим концентрированием с применением TFF (20× конечная концентрация) и SEC с выделением фракций, содержащих РМР.

Фиг. 5В представляет собой график, демонстрирующий поглощение при 280 нм (A.U.) элюированных фракций SEC грейпфрута с использованием нескольких колонок для

SEC. РМР элюируются в ранних фракциях 4-6, а контаминанты элюируются в поздних фракциях.

Фиг. 5С представляет собой график, демонстрирующий концентрацию белка (мкг/мл) в элюированных фракциях SEC грейпфрута с использованием нескольких колонок для SEC. РМР элюируются в ранних фракциях 4-6, а контаминанты элюируются в поздних фракциях.

Фиг. 5D представляет собой график, демонстрирующий поглощение при 280 нм (A.U.) элюированных фракций SEC лимона с использованием нескольких колонок для SEC. РМР элюируются в ранних фракциях 4-6, а контаминанты элюируются в поздних фракциях.

Фиг. 5E представляет собой график, демонстрирующий концентрацию белка (мкг/мл) в элюированных фракциях SEC лимона с использованием нескольких колонок для SEC. РМР элюировали в ранних фракциях 4-6, а контаминанты элюировали в поздних фракциях.

Фиг. 5F представляет собой диаграмму рассеяния и график, демонстрирующие размер частиц во фракциях SEC, содержащих РМР грейпфрута, после стерилизации с использованием фильтра с диаметром ячеек 0,22 мкм. На верхней панели представлена диаграмма рассеяния частиц в объединенных фракциях SEC, как измерено с помощью нанопоточной цитометрии (NanoFCM). Нижняя панель представляет собой график распределения гейтированных частиц по размеру (нм) (за вычетом фона). Концентрацию РМР (частиц/мл) и медианный размер (нм) определяли с использованием стандартов, представляющих собой гранулы, в соответствии с инструкциями NanoFCM.

Фиг. 5G представляет собой диаграмму рассеяния и график, демонстрирующие размер частиц во фракциях SEC, содержащих РМР лимона, после стерилизации с использованием фильтра с диаметром ячеек 0,22 мкм. На верхней панели представлена диаграмма рассеяния частиц в объединенных фракциях SEC, как измерено с помощью нанопоточной цитометрии (NanoFCM). Нижняя панель представляет собой график распределения гейтированных частиц по размеру (нм) (за вычетом фона). Концентрацию РМР (частиц/мл) и медианный размер (нм) определяли с использованием стандартов, представляющих собой гранулы, в соответствии с инструкциями NanoFCM.

Фиг. 5H представляет собой график, демонстрирующий стабильность РМР грейпфрута и лимона при 4° по Цельсию, определенную по концентрации РМР (РМР-частицы/мл) в различные моменты времени (дни после получения), как измерено с помощью NanoFCM.

Фиг. 5I представляет собой гистограмму, демонстрирующую стабильность РМР лимона (LM) после одного цикла замораживания-оттаивания при

-20° по Цельсию и -20° по Цельсию по сравнению с РМР лимона при хранении при 4° по Цельсию, как определено по концентрации РМР (РМР-частицы/мл) после одной недели хранения при указанных температурах, как измерено с помощью NanoFCM.

Фиг. 6A представляет собой график, демонстрирующий концентрацию частиц

(частицы/мл) в элюированных фракциях SEC культуры растительных клеток линии BMS, измеренную с помощью нанопоточной цитометрии (NanoFCM). PMP элюировали во фракциях SEC 4-6..

Фиг. 6B представляет собой график, демонстрирующий поглощение при 280 нм (A.U.) в элюированных фракциях SEC BMS, измеренное на спектрофотометре SpectraMax®. PMP элюировали во фракциях 4-6; фракции 9-13 содержали контаминанты.

Фиг. 6C представляет собой график, демонстрирующий концентрацию белка (мкг/мл) в элюированных фракциях SEC BMS, определенную с помощью ВСА-анализа. PMP элюировали во фракциях 4-6; фракции 9-13 содержали контаминанты.

Фиг. 6D представляет собой диаграмму рассеяния, демонстрирующую частицы в объединенных фракциях SEC, содержащих PMP BMS, как измерено с помощью нанопоточной цитометрии (NanoFCM). Концентрацию PMP (частицы/мл) определяли с использованием стандарта, представляющего собой гранулы, в соответствии с инструкциями NanoFCM.

Фиг. 6E представляет собой график, демонстрирующий распределение PMP BMS по размеру (нм) для гейтированных частиц (за вычетом фона) из фиг. 6D. Медианный размер PMP (нм) определяли с использованием стандартов Echo, представляющих собой гранулы, в соответствии с инструкциями NanoFCM.

Фиг. 7A представляет собой диаграмму рассеяния и график, демонстрирующие DyLight800nm-меченые PMP грейпфрута, как измерено с помощью нанопоточной цитометрии (NanoFCM). Верхняя панель представляет собой диаграмму рассеяния частиц в объединенных фракциях SEC. Концентрацию PMP ($4,44 \times 10^{12}$ PMP/мл) определяли с использованием стандарта, представляющего собой гранулы, в соответствии с инструкциями NanoFCM. Нижняя панель представляет собой график распределения DyLight800-PMP грейпфрута по размеру (нм). Медианный размер PMP определяли с использованием стандартов Echo, представляющих собой гранулы, в соответствии с инструкциями NanoFCM. Медианный размер DyLight800-PMP грейпфрута составлял 72,6 нм +/- 14,6 нм (SD).

Фиг. 7B представляет собой диаграмму рассеяния и график, демонстрирующие DyLight800nm-меченые PMP лимона, как измерено с помощью нанопоточной цитометрии (NanoFCM). Медианную концентрацию PMP ($5,18 \times 10^{12}$ PMP/мл) определяли с использованием стандарта, представляющего собой гранулы, в соответствии с инструкциями NanoFCM. Нижняя панель представляет собой график распределения DyLight800-PMP грейпфрута по размеру (нм). Размер PMP определяли с использованием стандартов Echo, представляющих собой гранулы, в соответствии с инструкциями NanoFCM. Медианный размер DyLight800-PMP лимона составлял 68,5 нм +/- 14 нм (SD).

Фиг. 7C представляет собой гистограмму, демонстрирующую захват DyL800nm-меченых PMP, полученных из грейпфрута и лимона, бактериями (*E. coli*, *P. aeruginosa*, и *P. syringae*) и дрожжами (*S. cerevisiae*) через 2 часа после обработки. Захват определяли по относительной интенсивности флуоресценции (A.U.), нормализованной по относительной

интенсивности флуоресценции контрольных микроорганизмов, обработанных только красителем.

Фиг. 8А представляет собой диаграмму рассеяния и график, демонстрирующие очищенные РМР лимона (объединенные и осажденные фракции SEC РМР), как измерено с помощью нанопоточной цитометрии (NanoFCM). Верхняя панель представляет собой диаграмму рассеяния частиц в объединенных фракциях SEC. Конечную концентрацию РМР лимона ($1,53 \times 10^{13}$ РМР/мл) определяли с использованием стандарта, представляющего собой гранулы, в соответствии с инструкциями NanoFCM. Нижняя панель представляет собой график распределения очищенных РМР лимона по размеру (нм). Нижняя панель представляет собой график распределения гейтированных частиц по размеру (нм). Медианный размер РМР определяли с использованием стандартов Echo, представляющих собой гранулы, в соответствии с инструкциями NanoFCM. Медианный размер РМР лимона составлял 72,4 нм +/- 19,8 нм (SD).

Фиг. 8В представляет собой диаграмму рассеяния и график, демонстрирующие Alexa Fluor® 488-(AF488)-меченые РМР лимона, как измерено с помощью нанопоточной цитометрии (NanoFCM). Верхняя панель представляет собой диаграмму рассеяния. Частицы гейтировали на основе сигнала флуоресценции FITC относительно немеченых частиц и фонового сигнала. Эффективность мечения составляла 99%, как определено по количеству флуоресцентных частиц относительно общего количества выявленных частиц. Конечную концентрацию AF488-РМР ($1,34 \times 10^{13}$ РМР/мл) определяли по количеству флуоресцентных частиц и с использованием стандарта, представляющего собой гранулы, с известной концентрацией в соответствии с инструкциями NanoFCM. Нижняя панель представляет собой график распределения AF488-меченых РМР лимона по размеру (нм). Медианный размер РМР определяли с использованием стандартов Echo, представляющих собой гранулы, в соответствии с инструкциями NanoFCM. Медианный размер РМР лимона составлял 72,1 нм +/- 15,9 нм (SD).

Fig. 9А представляет собой график, демонстрирующий поглощение при 280 нм (A.U.) в элюированных фракциях SEC грейпфрута, полученных с применением различных колонок для SEC (колонок А, В, С, D и E), измеренное на спектрофотометре SpectraMax®. РМР элюировали во фракциях 4-6.

Фиг. 9В представляет собой диаграмму рассеяния, демонстрирующую очищенные РМР грейпфрута (объединенные и осажденные фракции SEC РМР), как измерено с помощью нанопоточной цитометрии (NanoFCM). Конечную концентрацию РМР грейпфрута ($6,34 \times 10^{12}$ РМР/мл) определяли с использованием стандарта, представляющего собой гранулы, в соответствии с инструкциями NanoFCM.

Фиг. 9С представляет собой график, демонстрирующий распределение очищенных РМР грейпфрута по размеру (нм). Медианный размер РМР определяли с использованием стандартов Echo, представляющих собой гранулы, в соответствии с инструкциями NanoFCM. Медианный размер РМР грейпфрута составлял 63,7 нм +/- 11,5 нм (SD).

Fig. 9D представляет собой график, демонстрирующий поглощение при 280 нм

(A.U.) элюированных фракций SEC лимона с применением различных колонок для SEC, измеренное на спектрофотометре SpectraMax®. РМР элюировали во фракциях 4-6.

Фиг. 9Е представляет собой диаграмму рассеяния, демонстрирующую очищенные РМР лимона (объединенные и осажденные фракции SEC РМР), как измерено с помощью нанопроточной цитометрии (NanoFCM). Конечную концентрацию РМР лимона ($7,42 \times 10^{12}$ РМР/мл) определяли с использованием стандарта, представляющего собой гранулы, в соответствии с инструкциями NanoFCM.

Фиг. 9F представляет собой график, демонстрирующий распределение (нм) очищенных РМР лимона по размеру. Медианный размер РМР определяли с использованием стандартов Echo, представляющих собой гранулы, в соответствии с инструкциями NanoFCM. Медианный размер РМР лимона составлял 68 нм +/- 17,5 нм (SD).

Фиг. 9G представляет собой гистограмму, демонстрирующую нагрузочную способность DOX (пг DOX на 1000 РМР) РМР лимона (LM) и грейпфрута (GF), которые активно (обработка ультразвуком/экструзия) или пассивно (инкубация) загружали доксорубицином. Нагрузочную способность рассчитывали посредством деления общей концентрации DOX (пг/мл) в образце РМР-DOX (оцененной посредством измерения интенсивности флуоресценции ($E_x/E_m=485/550$ нм) с использованием спектрофотометра SpectraMax®) на общую концентрацию РМР (РМР/мл) в образце.

Фиг. 9H представляет собой график, демонстрирующий стабильность РМР грейпфрута и лимона, нагруженных DOX, при 4° по Цельсию, как определено по концентрации РМР (частицы РМР/мл) в различные моменты времени (дни после загрузки), как измерено с помощью NanoFCM.

Фиг. 10А представляет собой схематическую диаграмму, демонстрирующую протокол получения РМР из 4 литров грейпфрутового сока, обработанного пектиназой и EDTA, концентрированного 5× с использованием TFF 300 кДа, промытого 6 объемами PBS и концентрированного до конечной концентрации 20×. Эксклюзионную хроматографию использовали для элюирования фракций, содержащих РМР.

Фиг. 10В представляет собой график, демонстрирующий поглощение при 280 нм (A.U.) элюированных фракций SEC с применением 9 различных колонок для SEC (колонка для SEC А-J). РМР элюируют во фракциях SEC 3-7.

Фиг. 10С представляет собой график, демонстрирующий концентрацию белка (мкг/мл) в элюированных фракциях SEC с применением 9 различных колонок для SEC (колонка для SEC А-J). РМР элюируют во фракциях SEC 3-7. Стрелка указывает на фракцию, содержащую контаминанты.

Фиг. 10D представляет собой диаграмму рассеяния, демонстрирующую очищенные РМР грейпфрута (объединенные и осажденные фракции SEC РМР), как измерено с помощью нанопроточной цитометрии (NanoFCM). Конечную концентрацию РМР грейпфрута ($7,56 \times 10^{12}$ РМР/мл) определяли с использованием стандарта, представляющего собой гранулы, в соответствии с инструкциями NanoFCM.

Фиг. 10Е представляет собой график, демонстрирующий распределение очищенных РМР грейпфрута по размеру (нм). Медианный размер РМР определяли с использованием стандартов Echo, представляющих собой гранулы, в соответствии с инструкциями NanoFCM. Медианный размер РМР грейпфрута составлял 70,3 нм +/- 12,4 нм (SD).

Фиг. 10F представляет собой график, демонстрирующий цитотоксический эффект обработки *P. aeruginosa* с помощью РМР грейпфрута, нагруженных доксорубицином (DOX). Бактерии обрабатывали с помощью РМР-DOX в двух повторностях до эффективной концентрации DOX, составляющей 0 (отрицательный контроль), 5 мкМ, 10 мкМ, 25 мкМ, 50 мкМ и 100 мкМ. Измерение кинетики поглощения при 600 нм осуществляли (спектрофотометр SpectraMax®) для контроля OD культур в указанные моменты времени. Все значения OD на дозу обработки сначала нормализовали до OD в первом моменте времени при этой дозе для нормализации просачивания флуоресценции DOX при 600 нм при высокой концентрации. Для определения цитотоксического эффекта РМР-DOX в отношении бактерий в каждой группе обработки определяли относительную OD по сравнению с необработанным контролем (принятым за 100%).

Фиг. 10G представляет собой график, демонстрирующий цитотоксический эффект обработки *E. coli* с помощью РМР грейпфрута, нагруженных доксорубицином (DOX). Бактерии обрабатывали с помощью РМР-DOX в двух повторностях до эффективной концентрации DOX, составляющей 0 (отрицательный контроль), 5 мкМ, 10 мкМ, 25 мкМ, 50 мкМ и 100 мкМ. Измерение кинетики поглощения при 600 нм осуществляли (спектрофотометр SpectraMax®) для контроля OD культур в указанные моменты времени. Все значения OD на дозу обработки сначала нормализовали до OD в первом моменте времени при этой дозе для нормализации просачивания флуоресценции DOX при 600 нм при высокой концентрации. Для определения цитотоксического эффекта РМР-DOX в отношении бактерий в каждой группе обработки определяли относительную OD по сравнению с необработанным контролем (принятым за 100%).

Фиг. 10H представляет собой график, демонстрирующий цитотоксический эффект обработки *S. cerevisiae* с помощью РМР грейпфрута, нагруженных доксорубицином (DOX). Дрожжевые клетки обрабатывали с помощью РМР-DOX в двух повторностях до эффективной концентрации DOX, составляющей 0 (отрицательный контроль), 5 мкМ, 10 мкМ, 25 мкМ, 50 мкМ и 100 мкМ. Измерение кинетики поглощения при 600 нм осуществляли (спектрофотометр SpectraMax®) для контроля OD культур в указанные моменты времени. Все значения OD на дозу обработки сначала нормализовали до OD в первом моменте времени при этой дозе для нормализации просачивания флуоресценции DOX при 600 нм при высокой концентрации. Для определения цитотоксического эффекта РМР-DOX в отношении дрожжей в каждой группе обработки определяли относительную OD по сравнению с необработанным контролем (принятым за 100%).

Фиг. 10I представляет собой график, демонстрирующий цитотоксический эффект обработки *P. syringae* с помощью РМР грейпфрута, нагруженных доксорубицином (DOX).

Бактерии обрабатывали с помощью PMP-DOX в двух повторностях до эффективной концентрации DOX, составляющей 0 (отрицательный контроль), 5 мкМ, 10 мкМ, 25 мкМ, 50 мкМ и 100 мкМ. Измерение кинетики поглощения при 600 нм осуществляли (спектрофотометр SpectraMax®) для контроля OD культур в указанные моменты времени. Все значения OD на дозу обработки сначала нормализовали до OD в первом моменте времени при этой дозе для нормализации просачивания флуоресценции DOX при 600 нм при высокой концентрации. Для определения цитотоксического эффекта PMP-DOX в отношении бактерий в каждой группе обработки определяли относительную OD по сравнению с необработанным контролем (принятым за 100%).

Фиг. 11 представляет собой график, демонстрирующий люминесценцию (RLU, относительная единица люминесценции) бактерий *Pseudomonas aeruginosa*, которых обрабатывали ультрачистой водой (отрицательный контроль), 3 нг не содержащего люциферазы белка (контроль только с белком) или эффективной дозой белка люциферазы, составляющей 3 нг, с использованием нагруженных белком люциферазой PMP (PMP-Luc) в дублированных образцах в течение 2 часов при RT. Белок люциферазы в супернатанте и осажденных бактериях измеряли по люминесценции с использованием набора для анализа люциферазы ONE-Glo™ (Promega) и измеряли на спектрофотометре SpectraMax®.

Фиг. 12A представляет собой диаграмму рассеяния и график, демонстрирующие размер частиц в AF488-меченых PMP лимона, как измерено с помощью нанопоточной цитометрии (NanoFCM). Верхняя панель представляет собой диаграмму рассеяния, демонстрирующую AF488-меченые PMP лимона. Частицы гейтировали на основе сигнала флуоресценции FITC относительно немеченых частиц и фонового сигнала. Эффективность мечения составляла 89,4%, как определено по количеству флуоресцентных частиц относительно общего количества выявленных частиц. Конечную концентрацию AF488-PMP ($2,91 \times 10^{12}$ PMP/мл) определяли по количеству флуоресцентных частиц и с использованием стандарта, представляющего собой гранулы, с известной концентрацией в соответствии с инструкциями NanoFCM. Нижняя панель представляет собой график распределения 488-меченых PMP лимона по размеру (нм). Медианный размер PMP определяли с использованием стандартов Echo, представляющих собой гранулы, в соответствии с инструкциями NanoFCM. Медианный размер AF488-PMP лимона составлял 79,4 нм +/- 14,7 нм (SD).

Фиг. 12B представляет собой набор микрофотографий, демонстрирующих захват PMP лимона (LM), меченых с помощью Alexa Fluor® 488 (AF488), линиями растительных клеток *Glucine max* (соя), *Tritium aestivum* (пшеница) и культурой клеток линии BMS маиса. На светлых панелях показано положение клеток; на панелях, помеченных "GFP", показана флуоресценция AF488. Захват PMP клеткой определяется по присутствию сигнала AF488 в клетке. Свободный AF488 ("свободный краситель") показан в качестве контроля.

Фиг. 13 представляет собой пару диаграмм и набор микрофотографий,

демонстрирующих захват РМР лимона (LM) и грейпфрута (GF), меченых с помощью DL800, проростками *Arabidopsis thaliana* и ростками люцерны. Отображена интенсивность флуоресценции красителя DL800. Интенсивность флуоресценции измеряли через 22 hpt (часы после обработки) в случае проростков *Arabidopsis thaliana* и через 24 часа в случае ростков люцерны. Проростки, инкубированные без красителя ("отрицательный контроль") и со свободным красителем DL800 ("только краситель DL800"), показаны в качестве контролей.

Подробное описание

В данном документе предусмотрены композиции и связанные способы контроля вредителей растений, основанные на контроле вредителей, например, биорепелленты или биопестицидные композиции, которые содержат пакеты-мессенджеры растений (РМР), липидные сборки, полученные полностью или частично из растительных внеклеточных везикул (EV) или их сегментов, частей или экстрактов. РМР могут характеризоваться пестицидной или репеллентной активностью без включения дополнительных средств (например, гетерологичных функциональных средств, например, пестицидных средств или репеллентных средств), но могут быть необязательно модифицированы с включением дополнительных пестицидных или репеллентных средств против вредителей. Также включены составы, в которых РМР предусмотрены в практически чистой форме или концентрированных формах. Композиции и составы для контроля вредителей (например, биопестицидные или биорепеллентные), описанные в данном документе, можно доставлять непосредственно растению для обработки или предупреждения заражения вредителями и, таким образом, повышения приспособленности растения, такого как сельскохозяйственная культура. Дополнительно или в качестве альтернативы композиции для контроля вредителей (например, биопестицидные или биорепеллентные) можно доставлять множеству вредителей растений, таких как вредители, наносящие ущерб растениям, важным с точки зрения сельского хозяйства или торговли, для снижения приспособленности вредителей растений.

I. Композиции для контроля вредителей

Композиции для контроля вредителей (например, биопестицидные или биорепеллентные), описанные в данном документе, содержат совокупность пакетов-мессенджеров растений (РМР). РМР представляет собой липидную (например, из бислоя липидов, униламеллярную или мультиламеллярную структуру) структуру, которая содержит растительную EV или ее сегмент, часть или экстракт (например, липидный экстракт). Растительные EV относятся к замкнутой структуре из бислоя липидов, которая в природе встречается в растении. Диаметр растительных EV может составлять приблизительно 5-2000 нм. Растительные EV могут происходить из различных путей биогенеза растений. В природе растительные EV могут быть обнаружены во внутриклеточных и внеклеточных компартментах растений, таких как растительный апопласт, компартмент, расположенный снаружи плазматической мембраны и образованный континуумом клеточных стенок и внеклеточным пространством. В качестве

альтернативы РМР могут быть представлять собой обогащенные растительные EV, обнаруженные в средах для культивирования клеток при секреции из растительных клеток. Растительные EV могут быть отделены от растений (например, от апопластной жидкости), с получением таким образом РМР, с помощью множества способов, дополнительно описанных в данном документе.

Композиции для контроля вредителей (например, биопестицидные или биорепеллентные) могут содержать РМР, которые характеризуются пестицидной активностью или репеллентной активностью против вредителей растений без дополнительного включения дополнительных пестицидных или репеллентных средств. Однако РМР могут дополнительно содержать гетерологичное средство для контроля вредителей, например, пестицидное средство или репеллентное средство, которые можно вводить *in vivo* или *in vitro*. Таким образом, РМР могут содержать вещество с пестицидной активностью или репеллентной активностью, которое загружается в РМР или на него растением, из которого получен РМР. Например, пестицидное средство, загруженное в РМР *in vivo*, может представлять собой фактор, эндогенный для растения, или фактор, экзогенный для растения (например, экспрессируемый с помощью гетерологичной генетической конструкции в генетически сконструированном растении). В качестве альтернативы РМР могут быть загружены гетерологичным функциональным средством *in vitro* (например, после получения с помощью различных способов, дополнительно описанных в данном документе).

РМР могут содержать растительные EV или их сегменты, части или экстракты, диаметр растительных EV в которых составляет приблизительно 5-2000 нм. Например, РМР может содержать растительную EV или ее сегмент, часть или экстракт, средний диаметр которых составляет приблизительно 5-50 нм, приблизительно 50-100 нм, приблизительно 100-150 нм, приблизительно 150-200 нм, приблизительно 200-250 нм, приблизительно 250-300 нм, приблизительно 300-350 нм, приблизительно 350-400 нм, приблизительно 400-450 нм, приблизительно 450-500 нм, приблизительно 500-550 нм, приблизительно 550-600 нм, приблизительно 600-650 нм, приблизительно 650-700 нм, приблизительно 700-750 нм, приблизительно 750-800 нм, приблизительно 800-850 нм, приблизительно 850-900 нм, приблизительно 900-950 нм, приблизительно 950-1000 нм, приблизительно 1000-1250 нм, приблизительно 1250-1500 нм, приблизительно 1500-1750 нм или приблизительно 1750-2000 нм. В некоторых случаях РМР содержит растительную EV или ее сегмент, часть или экстракт, средний диаметр которых составляет приблизительно 5-950 нм, приблизительно 5-900 нм, приблизительно 5-850 нм, приблизительно 5-800 нм, приблизительно 5-750 нм, приблизительно 5-700 нм, приблизительно 5-650 нм, приблизительно 5-600 нм, приблизительно 5-550 нм, приблизительно 5-500 нм, приблизительно 5-450 нм, приблизительно 5-400 нм, приблизительно 5-350 нм, приблизительно 5-300 нм, приблизительно 5-250 нм, приблизительно 5-200 нм, приблизительно 5-150 нм, приблизительно 5-100 нм, приблизительно 5-50 нм или приблизительно 5-25 нм. В определенных случаях средний

диаметр растительной EV или ее сегмента, части или экстракта составляет приблизительно 50-200 нм. В определенных случаях средний диаметр растительной EV или ее сегмента, части или экстракта составляет приблизительно 50-300 нм. В определенных случаях средний диаметр растительной EV или ее сегмента, части или экстракта составляет приблизительно 200-500 нм. В определенных случаях средний диаметр растительной EV или ее сегмента, части или экстракта составляет приблизительно 30-150 нм.

В некоторых случаях РМР может содержать растительную EV или ее сегмент, часть или экстракт, средний диаметр которых составляет по меньшей мере 5 нм, по меньшей мере 50 нм, по меньшей мере 100 нм, по меньшей мере 150 нм, по меньшей мере 200 нм, по меньшей мере 250 нм, по меньшей мере 300 нм, по меньшей мере 350 нм, по меньшей мере 400 нм, по меньшей мере 450 нм, по меньшей мере 500 нм, по меньшей мере 550 нм, по меньшей мере 600 нм, по меньшей мере 650 нм, по меньшей мере 700 нм, по меньшей мере 750 нм, по меньшей мере 800 нм, по меньшей мере 850 нм, по меньшей мере 900 нм, по меньшей мере 950 нм или по меньшей мере 1000 нм. В некоторых случаях РМР содержит растительную EV или ее сегмент, часть или экстракт, средний диаметр которых составляет менее 1000 нм, менее 950 нм, менее 900 нм, менее 850 нм, менее 800 нм, менее 750 нм, менее 700 нм, менее 650 нм, менее 600 нм, менее 550 нм, менее 500 нм, менее 450 нм, менее 400 нм, менее 350 нм, менее 300 нм, менее 250 нм, менее 200 нм, менее 150 нм, менее 100 нм или менее 50 нм. Для измерения диаметра частицы растительной EV или ее сегмента, части или экстракта можно использовать различные способы (например, способ динамического светорассеяния), стандартные в данной области техники.

В некоторых случаях РМР может содержать растительную EV или ее сегмент, часть или экстракт, средняя площадь поверхности которых составляет от 77 нм^2 до $3,2 \times 10^6 \text{ нм}^2$ (например, $77-100 \text{ нм}^2$, $100-1000 \text{ нм}^2$, $1000-1 \times 10^4 \text{ нм}^2$, $1 \times 10^4-1 \times 10^5 \text{ нм}^2$, $1 \times 10^5-1 \times 10^6 \text{ нм}^2$ или $1 \times 10^6-3,2 \times 10^6 \text{ нм}^2$). В некоторых случаях РМР может содержать растительную EV или ее сегмент, часть или экстракт, средний объем которых составляет от 65 нм^3 до $5,3 \times 10^8 \text{ нм}^3$ (например, $65-100 \text{ нм}^3$, $100-1000 \text{ нм}^3$, $1000-1 \times 10^4 \text{ нм}^3$, $1 \times 10^4-1 \times 10^5 \text{ нм}^3$, $1 \times 10^5-1 \times 10^6 \text{ нм}^3$, $1 \times 10^6-1 \times 10^7 \text{ нм}^3$, $1 \times 10^7-1 \times 10^8 \text{ нм}^3$, $1 \times 10^8-5,3 \times 10^8 \text{ нм}^3$). В некоторых случаях РМР может содержать растительную EV или ее сегмент, часть или экстракт, среднюю площадь поверхности которых составляет по меньшей мере 77 нм^2 , (например, по меньшей мере 77 нм^2 , по меньшей мере 100 нм^2 , по меньшей мере 1000 нм^2 , по меньшей мере $1 \times 10^4 \text{ нм}^2$, по меньшей мере $1 \times 10^5 \text{ нм}^2$, по меньшей мере $1 \times 10^6 \text{ нм}^2$ или по меньшей мере $2 \times 10^6 \text{ нм}^2$). В некоторых случаях РМР может содержать растительную EV или ее сегмент, часть или экстракт, средний объем которых составляет по меньшей мере 65 нм^3 (например, по меньшей мере 65 нм^3 , по меньшей мере 100 нм^3 , по меньшей мере 1000 нм^3 , по меньшей мере $1 \times 10^4 \text{ нм}^3$, по меньшей мере $1 \times 10^5 \text{ нм}^3$, по меньшей мере $1 \times 10^6 \text{ нм}^3$, по меньшей мере $1 \times 10^7 \text{ нм}^3$, по меньшей мере $1 \times 10^8 \text{ нм}^3$, по меньшей мере $2 \times 10^8 \text{ нм}^3$, по меньшей мере $3 \times 10^8 \text{ нм}^3$, по меньшей мере $4 \times 10^8 \text{ нм}^3$ или по меньшей мере $5 \times 10^8 \text{ нм}^3$).

В некоторых случаях РМР может иметь тот же размер, что и растительная EV или ее сегмент, экстракт или часть. В качестве альтернативы РМР может иметь размер, отличный от размера исходной растительной EV, из которой получен РМР. Например, диаметр РМР может составлять приблизительно 5-2000 нм. Например, средний диаметр РМР может составлять приблизительно 5-50 нм, приблизительно 50-100 нм, приблизительно 100-150 нм, приблизительно 150-200 нм, приблизительно 200-250 нм, приблизительно 250-300 нм, приблизительно 300-350 нм, приблизительно 350-400 нм, приблизительно 400-450 нм, приблизительно 450-500 нм, приблизительно 500-550 нм, приблизительно 550-600 нм, приблизительно 600-650 нм, приблизительно 650-700 нм, приблизительно 700-750 нм, приблизительно 750-800 нм, приблизительно 800-850 нм, приблизительно 850-900 нм, приблизительно 900-950 нм, приблизительно 950-1000 нм, приблизительно 1000-1200 нм, приблизительно 1200-1400 нм, приблизительно 1400-1600 нм, приблизительно 1600-1800 нм или приблизительно 1800-2000 нм. В некоторых случаях средний диаметр РМР может составлять по меньшей мере 5 нм, по меньшей мере 50 нм, по меньшей мере 100 нм, по меньшей мере 150 нм, по меньшей мере 200 нм, по меньшей мере 250 нм, по меньшей мере 300 нм, по меньшей мере 350 нм, по меньшей мере 400 нм, по меньшей мере 450 нм, по меньшей мере 500 нм, по меньшей мере 550 нм, по меньшей мере 600 нм, по меньшей мере 650 нм, по меньшей мере 700 нм, по меньшей мере 750 нм, по меньшей мере 800 нм, по меньшей мере 850 нм, по меньшей мере 900 нм, по меньшей мере 950 нм, по меньшей мере 1000 нм, по меньшей мере 1200 нм, по меньшей мере 1400 нм, по меньшей мере 1600 нм, по меньшей мере 1800 нм или приблизительно 2000 нм. Для измерения диаметра частиц РМР можно использовать различные способы (например, способ динамического светорассеяния), стандартные в данной области техники. В некоторых случаях размер РМР определяют после загрузки гетерологичных функциональных средств или после других модификаций РМР.

В некоторых случаях средняя площадь поверхности РМР может составлять от 77 нм² до 1,3×10⁷ нм² (например, 77-100 нм², 100-1000 нм², 1000-1×10⁴ нм², 1×10⁴-1×10⁵ нм², 1×10⁵-1×10⁶ нм² или 1×10⁶-1,3×10⁷ нм²). В некоторых случаях средний объем РМР может составлять от 65 нм³ до 4,2×10⁹ нм³ (например, 65-100 нм³, 100-1000 нм³, 1000-1×10⁴ нм³, 1×10⁴-1×10⁵ нм³, 1×10⁵-1×10⁶ нм³, 1×10⁶-1×10⁷ нм³, 1×10⁷-1×10⁸ нм³, 1×10⁸-1×10⁹ нм³ или 1×10⁹-4,2×10⁹ нм³). В некоторых случаях средняя площадь поверхности РМР составляет по меньшей мере 77 нм², (например, по меньшей мере 77 нм², по меньшей мере 100 нм², по меньшей мере 1000 нм², по меньшей мере 1×10⁴ нм², по меньшей мере 1×10⁵ нм², по меньшей мере 1×10⁶ нм² или по меньшей мере 1×10⁷ нм²). В некоторых случаях средний объем РМР составляет по меньшей мере 65 нм³ (например, по меньшей мере 65 нм³, по меньшей мере 100 нм³, по меньшей мере 1000 нм³, по меньшей мере 1×10⁴ нм³, по меньшей мере 1×10⁵ нм³, по меньшей мере 1×10⁶ нм³, по меньшей мере 1×10⁷ нм³, по меньшей мере 1×10⁸ нм³, по меньшей мере 1×10⁹ нм³, по меньшей мере 2×10⁹ нм³, по меньшей мере 3×10⁹ нм³ или по меньшей мере 4×10⁹ нм³).

В некоторых случаях РМР может содержать интактную растительную EV. В

качестве альтернативы РМР может содержать сегмент, часть или экстракт с полной площадью поверхности везикулы (например, сегмент, часть или экстракт, содержащие менее 100% (например, менее 90%, менее 80%, менее более 70%, менее 60%, менее 50%, менее 40%, менее 30%, менее 20%, менее 10%, менее 10%, менее 5% или менее 1%) от полной площади поверхности везикулы) растительной EV. Сегмент, часть или экстракт могут иметь любую форму, такую как круговой сегмент, сферический сегмент (например, полусфера), криволинейный сегмент, линейный сегмент или плоский сегмент. В случаях, когда сегмент представляет собой сферический сегмент везикулы, сферический сегмент может представлять собой сегмент, который образуется в результате расщепления сферической везикулы вдоль пары параллельных линий, или сегмент, который возникает в результате расщепления сферической везикулы вдоль пары непараллельных линий. Соответственно, совокупность РМР может содержать совокупность интактных растительных EV, совокупность сегментов, частей или экстрактов растительных EV или смесь интактных растительных EV и сегментов растительных EV. Специалисту в данной области техники будет понятно, что соотношение интактных и сегментированных растительных EV будет зависеть от конкретного применяемого способа выделения. Например, гомогенизация или измельчение растения или его части могут привести к образованию РМР, которые содержат более высокий процент сегментов, частей или экстрактов растительных EV, чем при неструктурном способе экстракции, таком как вакуумная инфильтрация.

В случаях, когда РМР содержит сегмент, часть или экстракт растительной EV, сегмент, часть или экстракт EV могут иметь меньшую среднюю площадь поверхности, чем у интактной везикулы, например, среднюю площадь поверхности, составляющую менее 77 нм², 100 нм², 1000 нм², 1×10⁴ нм², 1×10⁵ нм², 1×10⁶ нм² или 3,2×10⁶ нм²). В некоторых случаях площадь поверхности сегмента, части или экстракта EV составляет менее 70 нм², 60 нм², 50 нм², 40 нм², 30 нм², 20 нм² или 10 нм²). В некоторых случаях РМР может содержать растительную EV или ее сегмент, часть или экстракт, который имеет меньший средний объем, чем средний объем интактной везикулы, например, средний объем, составляющий менее 65 нм³, 100 нм³, 1000 нм³, 1×10⁴ нм³, 1×10⁵ нм³, 1×10⁶ нм³, 1×10⁷ нм³, 1×10⁸ нм³ или 5,3×10⁸ нм³).

В случаях, когда РМР содержит экстракт растительной EV, например, в случаях, когда РМР содержит липиды, экстрагированные (например, с помощью хлороформа) из растительной EV, РМР может содержать по меньшей мере 1%, 2%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60% или больше липидов, экстрагированных (например, с помощью хлороформа) из растительной EV. РМР в совокупности могут содержать сегменты растительной EV и/или липиды, экстрагированные из растительной EV, или их смесь.

Далее в данном документе описаны подробности, относящиеся к способам получения РМР, маркеров растительной EV, которые могут быть ассоциированы с РМР, и составов для композиций, содержащих РМР.

A. Способы получения

РМР можно получать из растительных EV или их сегментов, частей или экстрактов (например, липидного экстракта), которые встречаются в природе в растениях или их частях, включая растительные ткани или растительные клетки. Иллюстративный способ получения РМР предусматривает (а) получение исходного образца из растения или его части, где растение или его часть содержат EV; и (b) выделение фракции неочищенных РМР из исходного образца, где фракция неочищенных РМР содержит пониженный уровень по меньшей мере одного контаминанта или нежелательного компонента из растения или его части по сравнению с уровнем в исходном образце. (c) Способ может дополнительно предусматривать дополнительную стадию (с), предусматривающую очистку фракции неочищенных РМР с получением таким образом совокупности чистых РМР, при этом совокупность чистых РМР содержит пониженный уровень по меньшей мере одного контаминанта или нежелательного компонента из растения или его части по сравнению с уровнем во фракции неочищенных EV. Каждый этап получения более подробно обсуждается ниже. Иллюстративные способы, относящиеся к выделению и очистке РМР можно найти, например, в Rutter and Innes, *Plant Physiol.* 173(1): 728-741, 2017; Rutter et al, *Bio. Protoc.* 7(17): e2533, 2017; Regente et al, *J of Exp. Biol.* 68(20): 5485-5496, 2017; Mu et al, *Mol. Nutr. Food Res.*, 58, 1561-1573, 2014 и Regente et al, *FEBS Letters.* 583: 3363-3366, 2009, каждый из которых включен в данный документ посредством ссылки.

Например, совокупность РМР может быть выделена из растения с помощью способа, который предусматривает стадии: (а) получения исходного образца из растения или его части, где растение или его часть содержат EV; (b) выделения фракции неочищенных РМР из исходного образца, где фракция неочищенных РМР содержит пониженный уровень по меньшей мере одного контаминанта или нежелательного компонента из растения или его части по сравнению с уровнем в исходном образце (например, уровень, который понижен на по меньшей мере 1%, 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 98%, 99%, или 100%); и (c) очистки фракции неочищенных РМР с получением таким образом совокупности чистых РМР, где совокупность чистых РМР содержит пониженный уровень по меньшей мере одного контаминанта или нежелательного компонента из растения или его части по сравнению с уровнем во фракции неочищенных EV (например, уровень, который понижен на по меньшей мере 1%, 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 98%, 99%, или 100%).

РМР, предусмотренные в данном документе, могут содержать растительную EV или ее сегмент, часть или экстракт, выделенные из множества растений. РМР могут быть выделены из любых родов растений (сосудистых или несосудистых), включая без ограничения покрытосеменные (однодольные и двудольные растения), голосеменные, папоротники, селлагинеллы, хвощи, псилофиты, ликофиты, водоросли (например, одноклеточные или многоклеточные, например, архепластидовые) или мхи. В определенных случаях РМР могут быть получены из сосудистого растения, например,

однодольных, двудольных или голосеменных. Например, РМР могут быть получены из люцерны, яблони, растения рода *Arabidopsis*, банана, ячменя, канолы, клещевины, цикория, хризантемы, клевера, какао, кофе, хлопчатника, семени хлопчатника, кукурузы, крамбе, клюквы, огурца, дендробиума, диоскореи, эвкалипта, овсяницы, льна, гладиолуса, растения семейства лилейные, семени льна, проса, дыни, горчицы, овса, масличной пальмы, масличного рапса, папайи, арахиса, ананаса, декоративных растений, фасоли, картофеля, рапса, риса, ржи, райграса, сафлора, кунжута, сорго, сои, сахарной свеклы, сахарного тростника, подсолнечника, клубники, табака, томата, газонной травы, пшеницы или овощных культур, таких как салат, сельдерей, брокколи, цветная капуста, тыквенные культуры; плодовых и ореховых деревьев, таких как яблоня, груша, персик, апельсин, грейпфрут, лимон, лайм, миндаль, пекан, грецкий орех, лещина; вьющихся растений, таких как виноград, киви, хмель; плодовых кустарников и колючих кустарников, таких как малина, ежевика, крыжовник; лесных деревьев, таких как ясень, сосна, пихта, клен, дуб, каштан, тополь; с люцерной, канолой, клещевиной, кукурузой, хлопчатником, крамбе, льном, семенем льна, горчицей, масличной пальмой, масличным рапсом, арахисом, картофелем, рисом, сафлором, кунжутом, соей, сахарной свеклой, подсолнечником, табаком, томатом или пшеницей.

РМР могут быть получены из цельного растения (например, целых розеток или проростков) или, в качестве альтернативы, из одной или нескольких частей растения (например, листа, семени, корня, плода, овоща, пыльцы, флоэмного сока или ксилемного сока). Например, РМР могут быть получены из вегетативных органов/структур побегов (например, листьев, стеблей или клубней), корней, цветков и органов/структур цветков (например, пыльцы, прицветников, чашелистиков, лепестков, тычинок, плодолистиков, пыльников или семяпочек), семени (включая зародыш, эндосперм или семенную оболочку), плода (зрелой завязи), сока (например, флоэмного или ксилемного сока), растительной ткани (например, сосудистой ткани, основной паренхимы, опухолевой ткани и т. п.) и клеток (например, отдельных клеток, протопластов, зародышей, каллусной ткани, замыкающих клеток, яйцеклеток и т. п.) или их потомства. Например, стадия выделения может включать (а) получение растения или его части. В некоторых примерах часть растения представляет собой лист растения рода *Arabidopsis*. Растение может находиться на любой стадии развития. Например, РМР можно получать из проростков, например, проростков возрастом 1 неделя, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 7 недель или 8 недель (например, проростков растения рода *Arabidopsis*). Другие иллюстративные РМР могут включать РМР, полученные из корней (например, корней имбиря), фруктового сока (например, грейпфрутового сока), овощей (например, брокколи), пыльцы (например, пыльцы оливкового дерева), флоэмного сока (например, флоэмного сока растения рода *Arabidopsis*) или ксилемного сока (например, ксилемного сока растения томата).

РМР могут быть получены из растения или его части с помощью различных способов. Любой способ, который позволяет высвободить апопластную фракцию

растения, содержащую EV, или иную внеклеточную фракцию, которая содержит РМР, содержащие секретируемые EV (например, среды для культивирования клеток), является подходящим в способах по настоящему изобретению. EV можно отделять от растения или части растения с помощью деструктивных (например, гомогенизация или измельчение растения или любой части растения) или недеструктивных (промывка или вакуумная инфльтрация растения или любой части растения) способов. Например, растение или его часть могут быть подвергнуты вакуумной инфльтрации, гомогенизации, измельчению или их комбинации для выделения EV из растения или части растения с получением таким образом РМР. Например, стадия выделения может включать (b) выделение фракции неочищенных РМР из исходного образца (например, растения, части растения или образца, полученного из растения или части растения), где стадия выделения включает вакуумную инфльтрацию растения (например, с буфером для выделения везикул) для высвобождения и сбора апопластной фракции. В качестве альтернативы стадия выделения может включать гомогенизацию или измельчение растения для высвобождения растительных EV с получением таким образом РМР.

После выделения растительных EV с получением таким образом РМР РМР можно отделять или собирать во фракции неочищенных РМР (например, апопластной фракции). Например, стадия отделения может включать отделение от совокупности РМР фракции неочищенных РМР с помощью центрифугирования (например, дифференциального центрифугирования или ультрацентрифугирования) и/или фильтрации для отделения фракции, содержащей РМР, от крупных контаминантов, включая дебрис растительных тканей, растительных клеток или органелл растительных клеток (например, ядер или хлоропластов). Таким образом, фракция неочищенных РМР будет содержать пониженное количество крупных контаминантов, включая дебрис растительных тканей, растительных клеток или органелл растительных клеток (например, ядер, митохондрий или хлоропластов) по сравнению с исходным образцом из исходного растения или части растения.

В некоторых случаях стадия выделения может включать отделение от совокупности РМР фракции неочищенных РМР с помощью центрифугирования (например, дифференциального центрифугирования или ультрацентрифугирования) и/или фильтрации для отделения фракции, содержащей РМР, от растительных клеток или клеточного дебриса. В таких случаях фракция неочищенных РМР будет содержать пониженное количество растительных клеток или клеточного дебриса по сравнению с исходным образцом из исходного растения или части растения.

Неочищенная фракция РМР может быть дополнительно очищена с помощью дополнительных способов очистки для получения совокупности чистых РМР. Например, фракция неочищенных РМР может быть отделена от других растительных компонентов с помощью ультрацентрифугирования, например, с использованием градиента плотности (йодиксанол или сахароза), и/или использования других подходов для удаления агрегированных компонентов (например, осаждения или эксклюзионной хроматографии).

Полученные чистые РМР могут содержать пониженный уровень контаминантов или нежелательных компонентов из исходного растения (например, одного или нескольких компонентов, отличных от РМР, таких как белковые агрегаты, агрегаты нуклеиновых кислот, агрегаты белок-нуклеиновая кислота, свободные липопротеины, липидопротеиновые структуры, ядра, компоненты клеточной стенки, клеточные органеллы или их комбинацию) по сравнению с одной или несколькими фракциями, полученными в ходе более ранних стадий разделения, или по сравнению с предварительно установленным пороговым уровнем, например, спецификацией коммерческого выпуска. Например, чистые РМР могут содержать пониженный уровень (например, на приблизительно 5%, 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% или более чем на 100%; или приблизительно в 2 раза, 4 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 25 раз, 50 раз, 75 раз, в 100 раз или более чем в 100 раз) растительных органелл или компонентов клеточной стенки по сравнению с уровнем в исходном образце. В некоторых случаях чистые РМР практически не содержат (например, содержат невыявляемые уровни) одного или нескольких компонентов, отличных от РМР, таких как белковые агрегаты, агрегаты нуклеиновых кислот, агрегаты белок-нуклеиновая кислота, свободные липопротеины, липидопротеиновые структуры), ядра, компоненты клеточной стенки, клеточные органеллы или их комбинации. Дополнительные примеры стадий высвобождения и разделения можно найти в примере 1. Концентрация РМР может составлять, например, 1×10^9 , 5×10^9 , 1×10^{10} , 5×10^{10} , 1×10^{11} , 2×10^{11} , 3×10^{11} , 4×10^{11} , 5×10^{11} , 6×10^{11} , 7×10^{11} , 8×10^{11} , 9×10^{11} , 1×10^{12} , 2×10^{12} , 3×10^{12} , 4×10^{12} , 5×10^{12} , 6×10^{12} , 7×10^{12} , 8×10^{12} , 9×10^{12} , 1×10^{13} или более 1×10^{13} РМР/мл.

Например, белковые агрегаты могут быть удалены из выделенных РМР. Например, раствор выделенных РМР может быть получен с использованием диапазона значений pH (например, при измерении с помощью pH-зонда) с осаждением белковых агрегатов в растворе. Значение pH может быть доведено, например, до pH 3, pH 5, pH 7, pH 9 или pH 11 посредством добавления, например, гидроксида натрия или хлористоводородной кислоты. Как только раствор достигнет указанного значения pH, его можно фильтровать для удаления твердых частиц. В качестве альтернативы раствор выделенных РМР можно флокулировать с применением добавления заряженных полимеров, таких как Polymix-P или Praestol 2640. Вкратце, к раствору добавляют Polymix-P или Praestol 2640 и перемешивают лопастной мешалкой. Затем раствор можно фильтровать с удалением твердых частиц. В качестве альтернативы агрегаты можно солюбилизировать посредством повышения концентрации соли. Например, NaCl можно добавлять к раствору выделенных РМР до тех пор, пока его концентрация не составит, например, 1 моль/л. Затем раствор можно фильтровать с выделением РМР. В качестве альтернативы агрегаты солюбилизируют посредством повышения температуры. Например, выделенные РМР можно нагревать при перемешивании до тех пор, пока раствор не достигнет однородной температуры, например, 50°C, в течение 5 минут. Затем смесь РМР можно фильтровать с выделением РМР. В качестве альтернативы растворимые контаминанты из растворов РМР

можно отделять с помощью эксклюзионной хроматографической колонки в соответствии со стандартными процедурами, где РМР элюируются в первых фракциях, в то время как белки, рибонуклеопротеины и некоторые липопротеины элюируются позже. Эффективность удаления белковых агрегатов можно определять путем измерения и сравнения концентрации белка до и после удаления белковых агрегатов с помощью количественного определения белка с помощью ВСА/метода Бредфорда.

Любой из способов получения, описанных в данном документе, может быть дополнен любыми количественными или качественными способами, известными из уровня техники, для характеристики или идентификации РМР на любой стадии способа получения. РМР могут быть охарактеризованы с помощью различных способов анализа для оценки выхода РМР, концентрации РМР, чистоты РМР, состава РМР или размеров РМР. РМР можно оценивать с помощью ряда способов, известных из уровня техники, которые позволяют визуализировать, количественно или качественно охарактеризовать (например, идентификация состава) РМР, таких как микроскопия (например, трансмиссионная электронная микроскопия), динамическое светорассеяние, отслеживание наночастиц, спектроскопия (например, инфракрасный анализ с преобразованием Фурье) или масс-спектрометрия (анализ белков и липидов). В определенных случаях способы (например, масс-спектрометрия) можно применять для идентификации маркеров растительных EV, присутствующих на РМР, таких как маркеры, раскрытые в приложении. Для облегчения анализа и характеристики фракции РМР могут быть дополнительно помечены или окрашены. Например, РМР могут быть окрашены с помощью йодида 3,3'-дигексилосакарбодианина (DIOC₆), флуоресцентного липофильного красителя, PKH67 (Sigma Aldrich); Alexa Fluor® 488 (Thermo Fisher Scientific) или DyLight™ 800 (Thermo Fisher). В отсутствие усложненных форм отслеживания наночастиц этот относительно простой подход позволяет количественно оценить общее содержание мембран и может применяться для опосредованного измерения концентрации РМР (Rutter and Innes, *Plant Physiol.* 173(1): 728-741, 2017; Rutter et al, *Bio. Protoc.* 7(17): e2533, 2017). Для более точных измерений и для оценки распределения РМР по размеру можно использовать отслеживание наночастиц.

В ходе процесса получения РМР необязательно могут быть получены таким образом, чтобы РМР имели повышенную концентрацию (например, на приблизительно 5%, 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% или более 100%; или приблизительно в 2 раза, 4 раза, 5 раз, 10 раз, 20 раз, 25 раз, 50 раз, 75 раз, 100 раз или более чем 100 раз) по сравнению с уровнем EV в контрольном или исходном образце. Выделенные РМР могут составлять от приблизительно 0,1% до приблизительно 100% композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной), например, от приблизительно 0,01% до приблизительно 100%, от приблизительно 1% до приблизительно 99,9%, от приблизительно 0,1% до приблизительно 10%, от приблизительно 1% до приблизительно 25%, от приблизительно 10% до приблизительно 50%, от приблизительно 50% до приблизительно 99% или от приблизительно 75% до

приблизительно 100%. В некоторых случаях композиция содержит по меньшей мере любое количество из 0,1%, 0,5%, 1%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% или более РМР, например, как измерено по вес./об., процентному содержанию белков РМР в композиции и/или процентному содержанию липидов в композиции (например, посредством измерения флуоресцентно меченых липидов); см., например, пример 3). В некоторых случаях концентрированные средства используются в качестве коммерческих продуктов, например, конечный потребитель может использовать разбавленные средства, которые имеют значительно более низкую концентрацию активного ингредиента. В некоторых вариантах осуществления композицию составляют в виде концентрированного состава для контроля вредителей, например, концентрированного состава сверхмалого объема.

Как проиллюстрировано в примере 1, РМР могут быть получены из множества растений или их частей (например, апопласта листа, апопласта семян, корня, плода, овоща, пыльцы, флоэмного или ксилемного сока). Например, РМР могут быть выделены из апопластной фракции растения, такой как апопласт листа (например, апопласт листьев *Arabidopsis thaliana*) или апопласт семян (например, апопласт семян подсолнечника). Другие иллюстративные РМР получают из корней (например, корней имбиря), фруктового сока (например, грейпфрутового сока), овощей (например, брокколи), пыльцы (например, пыльцы оливкового дерева), флоэмного сока (например, флоэмного сока растения рода *Arabidopsis*), ксилемного сока (например, ксилемного сока растения томата) или супернатанта культуры клеток (например, супернатанта культуры клеток табака BY2). Этот пример дополнительно демонстрирует получение РМР из этих различных растительных источников.

Как проиллюстрировано в примере 2, РМР можно очищать различными способами, например, с использованием градиента плотности (йодиксанол или сахароза) в сочетании с ультрацентрифугированием и/или способами удаления агрегированных контаминантов, например, осаждением или эксклюзионной хроматографией. Например, в примере 2 проиллюстрирована очистка РМР, которые были получены посредством стадий разделения, описанных в примере 1. Кроме того, РМР можно охарактеризовать в соответствии со способами, проиллюстрированными в примере 3.

В некоторых случаях РМР из композиций и способов по настоящему изобретению можно выделять из растения или его части и использовать без дальнейшей модификации РМР. В других случаях РМР может быть изменен перед использованием, как описано далее в данном документе.

В. Маркеры растительных EV

РМР из композиций и способов по настоящему изобретению могут содержать ряд маркеров, которые позволяют идентифицировать РМР как полученные из растительной EV и/или содержащие ее сегмент, часть или экстракт. Используемый в данном документе термин "маркер растительной EV" относится к компоненту, который естественным образом ассоциирован с растением и включен в EV или в ее поверхность *in planta*, такому

как растительный белок, растительная нуклеиновая кислота, растительная небольшая молекула, растительный липид или их комбинация. Примеры маркеров растительных EV можно найти, например, в Rutter and Innes, *Plant Physiol.* 173(1): 728-741, 2017; Raimondo et al., *Oncotarget.* 6(23): 19514, 2015; Ju et al., *Mol. Therapy.* 21(7):1345-1357, 2013; Wang et al., *Molecular Therapy.* 22(3): 522-534, 2014; и Regente et al, *J of Exp. Biol.* 68(20): 5485-5496, 2017; каждый из которых включен в данный документ посредством ссылки. Дополнительные примеры маркеров растительных EV перечислены в приложении и дополнительно описаны в данном документе.

Маркер растительной EV может включать растительный липид. Примеры растительных липидных маркеров, которые можно обнаружить в РМР, включают фитостерин, кампестерин, β -ситостерин, стигмастерин, авенастерин, гликозилинозитолфосфорилцерамиды (GIPC), гликолипиды (например, моногалактозилдиацилглицерин (MGDG) или дигалактозилдиацилглицерин (DGDG)) или их комбинацию. Например, РМР может содержать GIPC, которые представляют собой основной класс сфинголипидов в растениях и являются одними из наиболее распространенных мембранных липидов в растениях. Другие маркеры растительных EV могут включать липиды, которые накапливаются в растениях в ответ на абиотические или биотические стрессовые факторы (например, бактериальную или грибковую инфекцию), такие как фосфатидная кислота (PA) или фосфатидилинозитол-4-фосфат (PI4P).

В качестве альтернативы маркер растительной EV может включать растительный белок. В некоторых случаях белковый маркер растительной EV может представлять собой противомикробный белок, продуцируемый растениями в естественных условиях, включая защитные белки, которые растения секретируют в ответ на абиотические или биотические стрессовые факторы (например, бактериальную или грибковую инфекцию). Растительные защитные белки, используемые для защиты от патогенов, включают растворимые белки семейства рецепторного белка, представляющего собой белок, ассоциированный с фактором, чувствительным к N-этилмалемиду (SNARE) (например, синтаксин-121 (SYP121; № доступа в GenBank: NP_187788.1 или NP_974288.1), Penetration1 (PEN1; № доступа в GenBank: NP_567462.1)) или ABC-транспортер Penetration3 (PEN3; № доступа в GenBank: NP_191283.2). Другие примеры маркеров растительных EV включают белки, которые облегчают транспорт РНК на большие расстояния в растениях, включая белки флоэмы (например, белок флоэмы 2-A1 (PP2-A1), номер доступа в GenBank: NP_193719.1), кальций-зависимые липидсвязывающие белки или лектины (например, родственные джакалину лектины, например, джакалин *Helianthus annuus* (HelJa; № доступа в GenBank: ANZ86978.1). Например, РНК-связывающий белок может представлять собой богатый глицином РНК-связывающий белок 7 (GRP7; номер доступа в GenBank: NP_179760.1). Кроме того, белки, которые регулируют функцию плазмодесм, в некоторых случаях могут встречаться в растительных EV, включая белки, такие как синаптоагмин А А (номер доступа в GenBank: NP_565495.1). В некоторых случаях маркер растительной EV может включать белок, участвующий в метаболизме липидов,

такой как фосфолипаза С или фосфолипаза D. В некоторых случаях белковый маркер растительной EV представляет собой белок клеточного транспорта в растениях. В определенных случаях, когда маркер растительной EV представляет собой белок, белковый маркер может не иметь сигнального пептида, который обычно ассоциирован с секреторируемыми белками. Нестандартные секреторные белки, по-видимому, имеют несколько общих свойств, таких как (i) отсутствие лидерной последовательности, (ii) отсутствие РТМ, специфических для ER или аппарата Гольджи, и/или (iii) секреция, на которую не оказывает влияния брэфельдин А, который блокирует классический зависимый от ER/аппарата Гольджи путь секреции. Специалист в данной области техники может использовать различные общедоступные средства (например, базу данных SecretomeP; SUBA3 (база данных субклеточной локализации белков растений рода *Arabidopsis*)) для оценки белка в отношении сигнальной последовательности или ее отсутствия.

В случаях, когда маркер растительной EV представляет собой белок, белок может иметь аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99%, или 100% идентичностью последовательности с маркером растительной EV, таким как любой из маркеров растительных EV, перечисленных в приложении. Например, белок может иметь аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99%, или 100% идентичностью последовательности с PEN1 из *Arabidopsis thaliana* (номер доступа в GenBank: NP_567462.1).

В некоторых случаях маркер растительной EV включает нуклеиновую кислоту, кодируемую растениями, например, растительную РНК, растительную ДНК или растительную РНА. Например, РМР может содержать dsRNA, мРНК, вирусную РНК, микроРНК (miRNA) или малую интерферирующую РНК (siRNA), кодируемые растением. В некоторых случаях нуклеиновая кислота может представлять собой нуклеиновую кислоту, которая ассоциирована с белком, который облегчает транспорт РНК на большие расстояния в растениях, как обсуждается в данном документе. В некоторых случаях маркер растительной EV на основе нуклеиновой кислоты может участвовать в индуцированном хозяином сайленсинге генов (HIGS), который представляет собой процесс, с помощью которого растения подавляют чужеродные транскрипты вредителей растений (например, патогенов, таких как грибы). Например, нуклеиновая кислота может представлять собой нуклеиновую кислоту, которая подавляет гены бактерий или грибов. В некоторых случаях нуклеиновая кислота может представлять собой микроРНК, такую как miR159 или miR166, которая нацеливается на гены грибкового патогена (например, *Verticillium dahliae*). В некоторых случаях белок может представлять собой белок, участвующий в переносе растительных защитных соединений, такой как белки, участвующие в транспорте и метаболизме глюкозинолатов (GSL), включая транспортер-1 -1 глюкозинолатов (GTR1; № доступа в GenBank: NP_566896.2), транспортер-2

глюкозинолатов (GTR2; NP_201074.1) или эпителиоспецифический модификатор 1 (ESM1; NP_188037.1).

В случаях, когда маркер растительной EV представляет собой нуклеиновую кислоту, нуклеиновая кислота может иметь нуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99%, или 100% идентичностью последовательности с маркером растительной EV, например, с последовательностями, кодирующими маркеры растительных EV, перечисленные в приложении. Например, нуклеиновая кислота может иметь полинуклеотидную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99%, или 100% идентичностью последовательности с miR159 или miR166.

В некоторых случаях маркер растительной EV включает соединение, продуцируемое растениями. Например, соединение может представлять собой защитное соединение, продуцируемое в ответ на абиотические или биотические стрессовые факторы, такое как вторичные метаболиты. Одними из таких вторичных метаболитов, которые можно обнаружить в РМР, являются глюкозинолаты (GSL), которые представляют собой азот- и серосодержащие вторичные метаболиты, встречающиеся главным образом в растениях семейства Brassicaceae. Другие вторичные метаболиты могут включать аллелохимические вещества.

В некоторых случаях РМР также может быть идентифицирован как полученный из растительных EV на основании отсутствия определенных маркеров (например, липидов, полипептидов или полинуклеотидов), которые, как правило, не продуцируются растениями, но обычно ассоциированы с другими организмами (например, маркеры животных EV, растительных EV, бактериальных EV или грибковых EV). Например, в некоторых случаях РМР не содержит липидов, которые обычно встречаются в животных EV, бактериальных EV или грибковых EV. В некоторых случаях РМР не содержит липидов, типичных для животных EV (например, сфингомиелина). В некоторых случаях РМР не содержит липидов, типичных для бактериальных EV или бактериальных мембран (например, LPS). В некоторых случаях РМР не содержит липидов, типичных для мембран грибов (например, эргостерин).

Маркеры растительных EV могут быть идентифицированы с использованием любых подходов, известных из уровня техники, которые позволяют идентифицировать небольшие молекулы (например, масс-спектроскопия, масс-спектрометрия), липиды (например, масс-спектроскопия, масс-спектрометрия), белки (например, масс-спектроскопия, иммуноблоттинг) или нуклеиновые кислоты (например, ПЦР-анализ). В некоторых случаях композиция на основе РМР, описанная в данном документе, содержит выявляемое количество, например, предварительно определенное пороговое количество маркера растительной EV, описанного в данном документе.

С. Загрузка средств

РМР может быть модифицирован с включением гетерологичного функционального

средства, например, пестицидного средства или репеллентного средства, такого как средства, описанные в данном документе. РМР может нести такие средства или может быть ассоциирован с ними с помощью различных способов для обеспечения доставки средства целевому растению или вредителю растения, например, посредством инкапсулирования средства, включения компонента в структуру из бислоя липидов или ассоциации компонента (например, посредством конъюгации) с поверхностью структуры РМР из бислоя липидов.

Гетерологичное функциональное средство может быть включено или загружено в или на РМР с помощью любых способов, известных из уровня техники, которые обеспечивают, непосредственно или опосредованно, ассоциацию РМР и средства. Гетерологичные функциональные средства можно включать в РМР с помощью способа *in vivo* (например, *in planta*, например, посредством получения РМР из трансгенного растения, содержащего гетерологичное средство) или *in vitro* (например, в культуре ткани или в культуре клеток), или с помощью способов как *in vivo*, так и *in vitro*.

В случаях, когда РМР загружены гетерологичным функциональным средством (например, пестицидным средством или репеллентом) *in vivo*, РМР можно получать из EV или ее сегмента, части или экстракта, которые были загружены *in planta*, в культуре ткани или в культуре клеток. Способы *in planta* предусматривают экспрессию гетерологичного функционального средства (например, пестицидного средства или репеллентного средства) в растении, которое было генетически модифицировано для экспрессии гетерологичного функционального средства. В некоторых случаях гетерологичное функциональное средство является экзогенным для растения. В качестве альтернативы, гетерологичное функциональное средство может встречаться в растении в природе, но экспрессироваться на повышенном уровне по сравнению с уровнем, встречающимся в растении, которое не было генетически модифицировано.

В некоторых случаях РМР можно загружать *in vitro*. Вещество может быть загружено на РМР или в него (например, может быть инкапсулировано) с использованием без ограничения физических, химических и/или биологических способов. Например, гетерологичное функциональное средство можно вводить в РМР с помощью одного или нескольких из электропорации, обработки ультразвуком, пассивной диффузии, перемешивания, экстракции липидов или экструзии. Загруженные РМР можно оценивать для подтверждения присутствия или уровня загруженного средства с помощью различных способов, таких как HPLC (например, для оценки небольших молекул); иммуноблоттинг (например, для оценки белков); и количественная ПЦР (например, для оценки нуклеотидов). Однако специалистам в данной области техники должно быть понятно, что загрузка представляющего интерес вещества в РМР не ограничивается проиллюстрированными выше способами.

В некоторых случаях гетерологичное функциональное средство может быть конъюгировано с РМР, в котором гетерологичное функциональное средство связано или присоединено, опосредованно или непосредственно, к РМР. Например, одно или

несколько пестицидных средств могут быть химически связаны с РМР таким образом, что одно или несколько пестицидных средств присоединяются (например, посредством ковалентных или ионных связей) непосредственно к бислою липидов РМР. В некоторых случаях конъюгация различных пестицидных средств с РМР может быть достигнута посредством изначального смешивания одного или нескольких гетерологичных функциональных средств с подходящим сшивающим средством (например, N-этилкарбодиимидом ("EDC"), который обычно используется в качестве карбоксил-активирующего средства для образования амидной связи с первичными аминами, а также реагирует с фосфатными группами) в подходящем растворителе. После периода инкубации, достаточного для обеспечения присоединения гетерологичного функционального средства к сшивающему средству, смесь сшивающего средства/гетерологичного функционального средства затем можно объединить с РМР и, после еще одного периода инкубации, подвергнуть действию градиента сахарозы (например, 8, 30, 45 и 60% градиента сахарозы) для отделения свободного гетерологичного функционального средства и свободных РМР от пестицидных средств, конъюгированных с РМР. В качестве части объединения смеси с градиентом сахарозы и сопутствующей стадии центрифугирования, РМР, конъюгированные с пестицидными средствами, затем наблюдаются в виде полосы в градиенте сахарозы таким образом, что конъюгированные РМР могут быть собраны, промыты и растворены в подходящем растворе для применения, описанного в данном документе.

В некоторых случаях РМР стабильно ассоциирован с гетерологичным функциональным средством до и после доставки РМР, например, растению или вредителю. В других случаях РМР ассоциирован с гетерологичным функциональным средством таким образом, что гетерологичное функциональное средство становится диссоциированным от РМР после доставки РМР, например, растению или вредителю.

РМР может быть дополнительно модифицирован другими компонентами (например, липидами, например, стеринами, например, холестерином; или небольшими молекулами) для дальнейшего изменения функциональных и структурных характеристик РМР. Например, РМР можно дополнительно модифицировать с помощью стабилизирующих молекул, которые повышают стабильность РМР (например, в течение по меньшей мере одного дня при комнатной температуре, и/или стабильны в течение по меньшей мере одной недели при 4°C).

РМР могут быть загружены различными концентрациями гетерологичного функционального средства в зависимости от конкретного средства или применения. Например, в некоторых случаях РМР загружают таким образом, что композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная), описанная в данном документе, содержит приблизительно 0,001, 0,01, 0,1, 1,0, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, или 95 (или любой диапазон между приблизительно 0,001 и 95) или больше вес.% пестицидного средства и/или репеллентного средства. В некоторых случаях РМР загружают таким образом, что композиция для контроля

вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная) содержит приблизительно 95, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 15, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1,0, 0,1, 0,01, 0,001 (или любой диапазон между приблизительно 95 и 0,001) или меньше вес.% пестицидного средства и/или репеллентного средства. Например, композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная) может содержать от приблизительно 0,001 до приблизительно 0,01 вес.%, от приблизительно 0,01 до приблизительно 0,1 вес.%, от приблизительно 0,1 до приблизительно 1 вес.%, от приблизительно 1 до приблизительно 5 вес.% или от приблизительно 5 до приблизительно 10 вес.%, от приблизительно 10 до приблизительно 20 вес.% пестицидного средства и/или репеллентного средства. В некоторых случаях РМР может быть загружен приблизительно 1, 5, 10, 50, 100, 200 или 500, 1000, 2000 (или любой диапазон между приблизительно 1 и 2000) или больше мкг/мл пестицидного средства и/или репеллентного средства. Липосома по настоящему изобретению может быть загружена приблизительно 2000, 1000, 500, 200, 100, 50, 10, 5, 1 (или любой диапазон между приблизительно 2000 и 1) или меньше мкг/мл пестицидного средства и/или репеллентного средства.

В некоторых случаях РМР загружены таким образом, что композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная), раскрытая в данном документе, содержит по меньшей мере 0,001 вес.%, по меньшей мере 0,01 вес.%, по меньшей мере 0,1 вес.%, по меньшей мере 1,0 вес.%, по меньшей мере 2 вес.%, по меньшей мере 3 вес.%, по меньшей мере 4 вес.%, по меньшей мере 5 вес.%, по меньшей мере 6 вес.%, по меньшей мере 7 вес.%, по меньшей мере 8 вес.%, по меньшей мере 9 вес.%, по меньшей мере 10 вес.%, по меньшей мере 15 вес.%, по меньшей мере 20 вес.%, по меньшей мере 30 вес.%, по меньшей мере 40 вес.%, по меньшей мере 50 вес.%, по меньшей мере 60 вес.%, по меньшей мере 70 вес.%, по меньшей мере 80 вес.%, по меньшей мере 90 вес.% или по меньшей мере 95 вес.% пестицидного средства и/или репеллентного средства. В некоторых случаях РМР может быть загружен по меньшей мере 1 мкг/мл, по меньшей мере 5 мкг/мл, по меньшей мере 10 мкг/мл, по меньшей мере 50 мкг/мл, по меньшей мере 100 мкг/мл, по меньшей мере 200 мкг/мл, по меньшей мере 500 мкг/мл, по меньшей мере 1000 мкг/мл, по меньшей мере 2000 мкг/мл пестицидного средства и/или репеллентного средства.

Примеры конкретных пестицидных средств или репеллентных средств, которые могут быть загружены в РМР, дополнительно описаны в разделе под названием "Гетерологичные функциональные средства".

D. Составы

Для облегчения нанесения, обработки, транспортировки, хранения и активности активное средство, в данном случае РМР, может быть составлено с другими веществами. РМР могут быть составлены, например, в виде приманок, концентрированных эмульсий, пылевидных препаратов, эмульгируемых концентратов, фумигантов, гелей, гранул, микроинкапсулированных препаратов, обработок семян, суспензионных концентратов, суспензий, таблеток, водорастворимых жидкостей, диспергируемых в воде гранул

или сухих текучих составов, смачиваемых порошков и растворов сверхмалого объема. Для получения дополнительной информации о типах составов см. "Catalogue of Pesticide Formulation Types and International Coding System" Technical Monograph n° 2, 5th Edition by CropLife International (2002).

Активные средства (например, РМР, дополнительные пестициды) можно применять в виде водных суспензий или эмульсий, приготовленных из концентрированных составов таких средств. Такие водорастворимые, суспендируемые в воде или эмульгируемые составы представляют собой либо твердые вещества, обычно известные как смачиваемые порошки, или диспергируемые в воде гранулы, или жидкости, обычно известные как эмульгируемые концентраты, или водные суспензии. Смачиваемые порошки, которые можно компактизировать с образованием диспергируемых в воде гранул, содержат однородную смесь пестицида, носителя и поверхностно-активных веществ. Носитель обычно выбран из аттапульгитовых глин, монтмориллонитовых глин, диатомитовых земель или очищенных силикатов. Эффективные поверхностно-активные вещества, содержащие от приблизительно 0,5% до приблизительно 10% смачиваемого порошка, встречаются среди сульфированных лигнинов, конденсированных нафталинсульфонатов, нафталинсульфонатов, алкилбензолсульфонатов, алкилсульфатов и неионных поверхностно-активных веществ, таких как аддукты этиленоксида и алкилфенолов.

Эмульгируемые концентраты могут содержать подходящую концентрацию РМР, например, от приблизительно 50 до приблизительно 500 грамм на литр жидкости, растворенных в носителе, который представляет собой либо смешивающийся с водой растворитель, либо смесь не смешивающегося с водой органического растворителя и эмульгаторов. Пригодные органические растворители включают ароматические соединения, особенно ксилолы, и нефтяные фракции, особенно нафталиновые и олефиновые части нефти с высокой температурой кипения, такие как тяжелая ароматическая нефть. Можно также использовать другие органические растворители, такие как терпеновые растворители, в том числе производные канифоли, алифатические кетоны, такие как циклогексанон, и сложные спирты, такие как 2-этоксиэтанол. Подходящие эмульгаторы для эмульгируемых концентратов выбраны из обычных анионных и неионных поверхностно-активных веществ.

Водные суспензии включают суспензии нерастворимых в воде пестицидов, диспергированных в водном носителе в концентрации в диапазоне от приблизительно 5% до приблизительно 50% по весу. Суспензии готовят посредством тонкой гомогенизации пестицида и его интенсивного перемешивания с носителем, состоящим из воды и поверхностно-активных веществ. Ингредиенты, такие как неорганические соли и синтетические или натуральные камеди, также можно добавлять для повышения плотности и вязкости водного носителя.

РМР также можно применять в виде гранулированных композиций, которые особенно пригодны для внесения в почву. Гранулированные композиции обычно

содержат от приблизительно 0,5% до приблизительно 10% по весу пестицида, диспергированного в носителе, который содержит глину или подобное вещество. Такие композиции обычно получают посредством растворения состава в подходящем растворителе и нанесения его на гранулированный носитель, который был предварительно сформирован для достижения соответствующего размера частиц в диапазоне от приблизительно 0,5 до приблизительно 3 мм. Такие композиции также можно составлять посредством получения тестообразной массы или пасты из носителя и соединения, а также измельчения и высушивания с получением гранулированных частиц необходимого размера.

Пылевидные препараты, содержащие состав РМР по настоящему изобретению, получают посредством тщательного перемешивания РМР в порошкообразной форме с подходящим пылевидным носителем, приемлемым для применения с точки зрения сельского хозяйства, таким как каолиновая глина, гомогенизированная вулканическая порода и т. п. В подходящем случае пылевидные препараты могут содержать от приблизительно 1% до приблизительно 10% пакетов. Их можно применять для протравливания семян или для нанесения на листья с помощью опыливателя.

В равной степени практичным является применение состава по настоящему изобретению в форме раствора в подходящем органическом растворителе, обычно в нефтяном масле, таком как масла для опрыскивания, которые широко используются в сельскохозяйственной химии.

РМР также можно применять в форме аэрозольной композиции. В таких композициях пакеты растворены или диспергированы в носителе, который представляет собой создающую давление пропеллентную смесь. Аэрозольная композиция упакована в контейнер, из которого смесь распределяется через распылительный клапан.

Другой вариант осуществления представляет собой эмульсию типа масло-в-воде, где эмульсия содержит масляные глобулы, каждая из которых имеет ламеллярное жидкокристаллическое покрытие и диспергирована в водной фазе, где каждая масляная глобула содержит по меньшей мере одно соединение, которое является активным с точки зрения сельского хозяйства, и индивидуально покрыта моноламеллярным или олиголамеллярным слоем, содержащим: (1) по меньшей мере одно неионное липофильное поверхностно-активное средство, (2) по меньшей мере одно неионное гидрофильное поверхностно-активное средство и (3) по меньшей мере одно ионное поверхностно-активное средство, где глобулы имеют средний диаметр частиц, составляющий менее 800 нанометров. Дополнительная информация о варианте осуществления раскрыта в публикации патента США 20070027034, опубликованной 1 февраля 2007 г. Для простоты использования этот вариант осуществления будет называться "OIWE".

Кроме того, как правило, когда описанные выше молекулы используются в составе, такой состав также может содержать другие компоненты. Эти компоненты включают без ограничения (т. е., это не исчерпывающий и не исключаящий список) смачиватели, распределители, клеящие вещества, вещества, обеспечивающие проникновение, буферы,

секвестрирующие средства, средства для снижения сноса, средства, обеспечивающие совместимость, средства, препятствующие пенообразованию, чистящие средства и эмульгаторы. Сразу описаны некоторые компоненты.

Смачивающее средство представляет собой вещество, которое при добавлении к жидкости повышает способность жидкости растекаться или ее проникающую способность за счет снижения межфазного натяжения между жидкостью и поверхностью, по которой она растекается. Смачивающие средства используются для двух основных функций в агрохимических составах: в ходе обработки и изготовления для повышения скорости смачивания порошков в воде для получения концентратов растворимых жидкостей или суспензионных концентратов; и в ходе смешивания продукта с водой в распылительном резервуаре для уменьшения времени смачивания смачиваемых порошков и улучшения проникновения воды в диспергируемые в воде гранулы. Примеры смачивающих средств, используемых в составах на основе смачиваемых порошков, суспензионных концентратов и диспергируемых в воде гранул, представляют собой лаурилсульфат натрия; диоктилсульфосукцинат натрия; этоксилаты алкилфенола; и этоксилаты алифатических спиртов.

Диспергирующее средство представляет собой вещество, которое адсорбируется на поверхности частиц, способствует сохранению состояния дисперсности частиц и предотвращает их повторную агрегацию. Диспергирующие средства добавляют к агрохимическим составам для облегчения диспергирования и суспендирования в ходе изготовления и для обеспечения повторного диспергирования частиц в воде в распылительном резервуаре. Они широко используются в смачиваемых порошках, суспензионных концентратах и диспергируемых в воде гранулах. Поверхностно-активные вещества, которые используются в качестве диспергирующих средств, обладают способностью сильно адсорбироваться на поверхности частиц и обеспечивать заряженный или стерический барьер для повторной агрегации частиц. Наиболее часто используемыми поверхностно-активными веществами являются анионные, неионные или смеси двух типов. Для составов на основе смачиваемых порошков наиболее распространенными диспергирующими средствами являются лигносульфонаты натрия. Для суспензионных концентратов очень хорошая адсорбция и стабилизация достигаются с использованием полиэлектролитов, таких как конденсаты формальдегида и нафталинсульфоната натрия. Также используются сложные эфиры фосфорной кислоты и этоксилата тристирилфенола. Неионные вещества, такие как конденсаты алкиларилэтиленоксида и блок-сополимеры EO-PO, иногда комбинируют с анионными веществами в качестве диспергирующих средств для суспензионных концентратов. В последние годы в качестве диспергирующих средств были разработаны новые типы полимерных поверхностно-активных веществ с очень высоким молекулярным весом. Они имеют очень длинные гидрофобные "остовы" и большое количество этиленоксидных цепей, образующих "зубцы" "гребешка" поверхностно-активного вещества. Эти высокомолекулярные полимеры могут обеспечивать очень высокую долговременную стабильность суспензионных

концентратов, поскольку гидрофобные остовы имеют много точек прикрепления к поверхностям частиц. Примеры диспергирующих средств, используемых в агрохимических составах, представляют собой лигносульфонаты натрия; конденсаты формальдегида и нафталинсульфоната натрия; сложные эфиры фосфорной кислоты и этоксилата тристирилфенола; этоксилаты алифатических спиртов; алкилэтоксилаты; блок-сополимеры EO-PO (этиленоксид - пропиленоксид); и привитые сополимеры.

Эмульгирующее средство представляет собой вещество, которое стабилизирует суспензию капель одной жидкой фазы в другой жидкой фазе. Без эмульгирующего средства две жидкости разделились бы на две несмешивающиеся жидкие фазы. Наиболее часто используемые смеси эмульгаторов содержат алкилфенол или алифатический спирт с двенадцатью или более звеньями этиленоксида и маслорастворимую кальциевую соль додецилбензолсульфоновой кислоты. Диапазон значений гидрофильно-липофильного баланса ("HLB") от 8 до 18 обычно обеспечивает получение высокостабильных эмульсий. Стабильность эмульсии иногда может быть улучшена посредством добавления небольшого количества поверхностно-активного вещества, представляющего собой блок-сополимер EO-PO.

Солюбилизирующее средство представляет собой поверхностно-активное вещество, которое будет образовывать мицеллы в воде при концентрациях выше критической концентрации мицеллообразования. Затем мицеллы способны растворять или солюбилизовать нерастворимые в воде материалы внутри гидрофобной части мицеллы. Типы поверхностно-активных веществ, обычно используемых для солюбилизации, представляют собой неионные вещества, моноолеаты сорбитана, этоксилаты моноолеатов сорбитана и сложные эфиры метилолеата.

Иногда используют поверхностно-активные вещества, либо отдельно, либо с другими добавками, такими как минеральные или растительные масла, в качестве вспомогательных средств к смесям в распылительных резервуарах для улучшения биологических свойств пестицида в отношении мишени. Типы поверхностно-активных веществ, используемых для биоусиления, обычно зависят от природы и механизма действия пестицида. Однако они часто представляют собой неионные вещества, такие как алкилэтоксилаты; этоксилаты линейных алифатических спиртов; этоксилаты алифатических аминов.

Носитель или разбавитель в сельскохозяйственном составе представляет собой материал, добавляемый к пестициду для придания продукту необходимой прочности. Носители обычно представляют собой материалы с высокой абсорбционной способностью, тогда как разбавители обычно представляют собой материалы с низкой абсорбционной способностью. Носители и разбавители используются в составах на основе пылевидных препаратов, смачиваемых порошков, гранул и диспергируемых в воде гранул.

Органические растворители используются главным образом в составе на основе эмульгируемых концентратов, эмульсий типа масло-в-воде, суспоземulsion и в составах

сверхмалого объема, а также, в меньшей степени, в гранулированных составах. Иногда используются смеси растворителей. Первыми основными группами растворителей являются алифатические парафиновые масла, такие как керосин или очищенные парафины. Вторая основная группа (и наиболее распространенная) включает ароматические растворители, такие как ксилол, и более высокомолекулярные фракции C9 и C10 ароматических растворителей. Хлорированные углеводороды пригодны в качестве соразтворителей для предотвращения кристаллизации пестицидов при эмульгировании состава в воде. Спирты иногда используются в качестве соразтворителей для повышения растворяющей способности. Другие растворители могут включать растительные масла, масла из семян и сложные эфиры из растительных масел и масел из семян.

Загустители или гелеобразующие средства используются главным образом в составе на основе суспензионных концентратов, эмульсий и суспензий для изменения реологических свойств или свойств текучести жидкости и предотвращения разделения и осаждения диспергированных частиц или капель. Загустители, гелеобразующие средства и средства, препятствующие осаждению, обычно делятся на две категории, а именно нерастворимые в воде твердые частицы и водорастворимые полимеры. Можно получать составы на основе суспензионных концентратов с использованием глин и диоксидов кремния. Примеры этих типов материалов включают без ограничения монтмориллонит, бентонит, алюмосиликат магния и аттапульгит. Водорастворимые полисахариды использовались в качестве загустителей и гелеобразующих средств в течение многих лет. Наиболее часто используемые типы полисахаридов представляют собой натуральные экстракты семян и морских водорослей или синтетические производные целлюлозы. Примеры этих типов материалов включают без ограничения гуаровую камедь; камедь рожкового дерева; каррагинан; альгинаты; метилцеллюлозу; натрийкарбоксиметилцеллюлозу (SCMC); гидроксипропилцеллюлозу (HPC). Другие типы средств, препятствующих осаждению, основаны на модифицированных крахмалах, полиакрилатах, поливинилом спирте и полиэтиленоксиде. Еще одним хорошим средством, препятствующим осаждению, является ксантановая камедь.

Микроорганизмы могут вызывать порчу составленных продуктов. Поэтому для устранения или снижения их влияния используются консерванты. Примеры таких средств включают без ограничения пропионовую кислоту и ее натриевую соль; сорбиновую кислоту и ее натриевые или калиевые соли; бензойную кислоту и ее натриевую соль; натриевую соль п-гидроксibenзойной кислоты; метил-п-гидроксibenзоат; и 1,2-бензотиазолин-3-он (BIT).

Присутствие поверхностно-активных веществ часто вызывает пенообразование в составах на водной основе в ходе операций смешивания при получении и при применении с помощью распылительного резервуара. С целью снижения тенденции к пенообразованию, средства, препятствующие пенообразованию, часто добавляют в ходе стадии изготовления или перед наполнением бутылок. Как правило, существует два типа средств, препятствующих пенообразованию, а именно силиконы и средства на основе,

отличной от силиконов. Силиконы обычно представляют собой водные эмульсии диметилполисилоксана, тогда как средства, препятствующие вспениванию, отличные от средств на основе силикона, представляют собой нерастворимые в воде масла, такие как октанол и нонанол, или диоксид кремния. В обоих случаях функция средства, препятствующего пенообразованию, заключается в вытеснении поверхностно-активного вещества с поверхности раздела воздух-вода.

"Экологичные" средства (например, вспомогательные вещества, поверхностно-активные вещества, растворители) могут уменьшать общее экологическое воздействие составов для защиты растительных культур. Экологичные средства являются биоразлагаемыми и обычно образуются из природных и/или пополняемых источников, например, из растительных и животных источников. Конкретными примерами являются: растительные масла, масла из семян и их сложные эфиры, а также алкоксилированные алкилполиглюкозиды.

В некоторых случаях РМР можно сублимировать или лиофилизировать. См. патент США № 4 311 712. Позднее РМР можно восстанавливать при контакте с водой или другой жидкостью. К лиофилизированным или восстановленным липосомам могут быть добавлены другие компоненты, например, другие пестицидные средства, приемлемые с точки зрения сельского хозяйства носители или другие материалы в соответствии с составами, описанными в данном документе.

Другие необязательные особенности композиции включают носители или основы для доставки, которые защищают композицию для контроля вредителей (например, биопестицидную или биорепеллентную) от УФ и/или кислых условий. В некоторых случаях средство доставки содержит рН-буфер. В некоторых случаях композиция составлена таким образом, что она имеет рН в диапазоне от приблизительно 4,5 до приблизительно 9,0, включая, например, любой из диапазонов рН от приблизительно 5,0 до приблизительно 8,0, от приблизительно 6,5 до приблизительно 7,5 или от приблизительно 6,5 до приблизительно 7,0.

Композиция может дополнительно содержать аттрактант (например, хемоаттрактант), который привлекает вредителя в непосредственной близости от композиции. Аттрактанты включают феромоны, химические вещества, которые секретируются животным, в частности, вредителем, или хемоаттрактанты, которые влияют на поведение или развитие других особей этого же вида. Другие аттрактанты включают сахарные сиропы и сиропы на основе гидролизатов белков, дрожжевые грибы и гниющее мясо. Аттрактанты также можно объединять с активным ингредиентом и распылять на листья или другие предметы в обрабатываемой области. Известны различные аттрактанты, которые влияют на поведение вредителя, например, поиск вредителем пищи, мест для откладывания яиц или спаривания или партнеров для спаривания. Аттрактанты, пригодные в способах и композициях, описанных в данном документе, включают, например, эвгенол, фенэтилпропионат, этилдиметилизобутилциклопропанкарбоксилат, пропилбензодиоксанкарбоксилат, цис-7,8-

эпокси-2-метилоктадекан, транс-8,транс-0-додекадиенол, цис-9-тетрадеценаль (и цис-11-гексадеценаль), транс-11-тетрадеценаль, цис-11-гексадеценаль, (Z)-11,12-гексадекадиеналь, цис-7-додеценилацетат, цис-8-додеценилацетат, цис-9-додеценилацетат, цис-9-тетрадеценилацетат, цис-11-тетрадеценилацетат, транс-11-тетрадеценилацетат (и цис-11), цис-9,транс-11-тетрадекадиенилацетат (и цис-9,транс-12), цис-9,транс-12-тетрадекадиенилацетат, цис-7,цис-11-гексадекадиенилацетат (и цис-7,транс-11), цис-3,цис-13-октадекадиенилацетат, транс-3,цис-13-октадекадиенилацетат, анетол и изоамилсалицилат.

Для получения дополнительной информации о сельскохозяйственных составах см. "Chemistry and Technology of Agrochemical Formulations", под редакцией D. A. Knowles, авторское право 1998 г. от Kluwer Academic Publishers. Также см. "Insecticides in Agriculture and Environment-Retrospects and Prospects" A. S. Perry, I. Yamamoto, I. Ishaaya, and R. Perry, авторское право 1998 г. от Springer-Verlag.

II. Сельскохозяйственные способы

Композиции для контроля вредителей (например, биопестицидные или биорепеллентные), описанные в данном документе, пригодны в различных сельскохозяйственных способах, в частности, для предупреждения или снижения заражения вредителями растений.

Способы по настоящему изобретению включают доставку композиций, описанных в данном документе, для контроля вредителей (например, биопестицидных или биорепеллентных), растению или вредителю растения, таким как описанные в данном документе. Композиции и соответствующие способы можно применять для предупреждения заражения или снижения количества вредителей растений на растениях, частях растений (например, корнях, плодах и семенах), в почве или на ней или на другой среде для растений. Соответственно, композиции и способы могут снижать повреждающее действие вредителей растений на растение, например, уничтожая, повреждая или замедляя активность вредителя, и, таким образом, могут повышать приспособленность растения. Вредители растений включают, например, насекомых, нематод, моллюсков, бактерий, грибы, оомицеты, простейших и сорняки (см. раздел "Вредители растений"). Композиции по настоящему изобретению можно использовать для контроля, уничтожения, повреждения, паралича или снижения активности одного или нескольких из этих вредителей на любой стадии развития, например, их яйца, нимфы, личинки, гусеницы, взрослой особи, молодой особи или высохших форм. Эти способы могут быть также пригодны для контроля сорняков. Подробности каждого из этих способов описаны ниже.

A. Доставка растению

В данном документе предусмотрены способы доставки растению композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной), раскрытой в данном документе. Предусмотрены способы доставки композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной) растению путем

приведения растения или его части в контакт с композицией для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной). Способы могут быть пригодны для повышения приспособленности растения, например, путем обработки или предупреждения заражения растений вредителями.

Таким образом, эти способы можно применять для повышения приспособленности растения. В одном аспекте в данном документе предусмотрен способ повышения приспособленности растения, где способ предусматривает доставку растению композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной), описанной в данном документе (например, в эффективном количестве и в течение эффективного периода времени), для повышения приспособленности растения по сравнению с необработанным растением (например, растением, которому не была введена композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная)).

Повышение приспособленности растения в результате доставки композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной) может проявляться несколькими путями, например, тем самым приводя к более высокой производительности растения, например, повышенной урожайности, повышенной жизнеспособности растения или повышению качества продукта, собранного с растения. Повышение урожайности растения относится к повышению урожайности продукта (например, измеряемой по биомассе растения, урожаю зерна, семян или плодов, содержанию белка, углеводов или масел или площади листьев) растения на измеримое количество по сравнению с урожайностью того же продукта растения, полученного в тех же условиях, но без применения композиций по настоящему изобретению или по сравнению с применением обычных пестицидов. Например, урожайность может быть повышена на по меньшей мере приблизительно 0,5%, приблизительно 1%, приблизительно 2%, приблизительно 3%, приблизительно 4%, приблизительно 5%, приблизительно 10%, приблизительно 20%, приблизительно 30%, приблизительно 40%, приблизительно 50%, приблизительно 60%, приблизительно 70%, приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 100% или более 100%. Урожайность может быть выражена в виде количества по массе или объему растения или продукта растения на некоторой основе. Основа может быть выражена с точки зрения времени, площади выращивания, веса выращенных растений или количества используемого сырья. Например, такие способы могут приводить к повышению урожайности растительных тканей, в том числе без ограничения семян, плодов, ядер, семенных коробочек, клубней, корней и листьев.

Повышение жизнеспособности растения как следствие доставки композиции для контроля вредителей (например, биопестицидных или биорепеллентных) также можно измерить другими способами, такими как увеличение или улучшение показателя жизнеспособности, насаждения (количества растений на единицу площади), высота растения, окружность стебля, длина стебля, количество листьев, размер листа, ярус листового полога, внешнего вида (например, более зеленый цвет листьев), оценка корней,

всхожесть, содержание белка, повышенное кущение, более крупные листья, большее количество листьев, меньшее количество мертвых прикорневых листьев, более сильные побеги, потребность в меньшем количестве удобрений, потребность в меньшем количестве семян, более продуктивные побеги, более раннее цветение, раннее зерно или зрелость семян, меньшая ломкость растений (полегание), усиленный рост побегов, более раннее прорастание или любая комбинация этих факторов на измеримую или заметную величину по сравнению с тем же фактором растения, выращенного в тех же условиях, но без введения композиций по настоящему изобретению или с применением обычных пестицидов.

i. Обработка вредителей

В данном документе предусмотрен способ снижения заражения вредителями растения, имеющего заражение, который включает доставку композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной) на растение (например, в эффективном количестве и в течение эффективного периода времени) для снижения заражения по сравнению с необработанным растением. Например, способ может быть эффективным для снижения заражения на приблизительно 1%, 2%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 99%, 100%, или более 100% по сравнению с необработанным растением. В некоторых случаях способ является эффективным для снижения заражения приблизительно в 2, 5, 10, 25, 50, 75, 100 или более 100 раз по сравнению с необработанным растением. В некоторых случаях способ значительно устраняет заражение по сравнению с заражением необработанного растения. В качестве альтернативы этот способ может замедлить прогрессирование заражения растения или уменьшить тяжесть симптомов, ассоциированных с заражением растения. Композиции может быть достаточно для снижения численности (например, уничтожения или отпугивания) вредителя, например, на по меньшей мере 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или больше по сравнению с контролем.

Композиции для контроля вредителей (например, биопестицидные или биорепеллентные), описанные в данном документе, могут быть пригодны для стимуляции роста растений. Например, благодаря снижению приспособленности наносящих ущерб вредителей, композиции для контроля вредителей (например, биопестицидные или биорепеллентные), предусмотренные в данном документе, могут быть эффективными для стимуляции роста растений, которые обычно поражаются вредителем. Для этого может быть предусмотрено прямое нанесение композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной) на растение, или прямое нанесение композиции может быть не предусмотрено. Например, в случаях, когда первичная среда обитания вредителей отличается от области роста растений, композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная) может применяться к первичной среде обитания вредителей или к растениям, представляющим интерес, или к их комбинации.

В некоторых случаях растение может представлять собой сельскохозяйственную продовольственную культуру, такую как злаковую, зерновую, бобовую, плодовую или

овощную культуру, или непродовольственную культуру, например, травы, цветущие растения, хлопчатник, сено, коноплю. Композиции, описанные в данном документе, могут быть доставлены в сельскохозяйственную культуру в любое время до или после сбора злаковой, зерновой, бобовой, плодовой, овощной или другой сельскохозяйственной культуры. Урожайность представляет собой показатель, часто применяемый в отношении сельскохозяйственных культур и обычно измеряемый в метрических тоннах на гектар (или килограммах на гектар). Урожайность также относится к фактическому образованию семян из растения. В некоторых случаях композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная) может быть эффективной для повышения урожайности сельскохозяйственных культур (например, повышения метрических тонн злаковых, зерновых, бобовых, плодовых или овощных культур на гектар и/или повышения образования семян) на приблизительно 2%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% или больше по сравнению с референтным уровнем (например, культуры, в которую не вводили композицию для контроля вредителей (например, биопестицидную или биорепеллентную)).

Снижение заражения означает снижение количества вредителей на растении или вокруг него или ослабление симптомов или признаков на растении, которые прямо или косвенно вызваны этим вредителем. Степень заражения растения можно измерить в любое время после обработки и сравнить с симптомами во время обработки или до нее. Растение может проявлять или не проявлять симптомы заражения. Например, растение может быть заражено вредителем, но не проявлять признаков заражения, например, реакцию сверхчувствительности (HR). Зараженное растение можно идентифицировать путем наблюдения на нем симптомов заболевания. Проявляемые симптомы заболевания будут зависеть от заболевания, но в целом симптомы включают поражения, пустулы, некроз, реакции сверхчувствительности, вилт, хлороз, индукцию генов, связанных с защитой (например, генов SAR) и т. п.

Специалисту в данной области техники будет понятно, что способы определения зараженности растений и заболевания, вызванного вредителем растения, зависят от исследуемого вредителя и растения. Заражение или ассоциированные с ним симптомы могут быть идентифицированы любыми средствами идентификации заражения или соответствующих симптомов. Доступны различные способы идентификации зараженных растений и ассоциированных с ними симптомов. В одном аспекте способы могут включать макроскопический или микроскопический скрининг в отношении инфекции и/или симптомов, количественную ПЦР или использование микроматриц для обнаружения генов, связанных с инфекцией (например, генов системной приобретенной устойчивости, генов дефензинов и т. п.). Макроскопические и микроскопические способы определения заражения растений известны в данной области техники и включают идентификацию повреждения растительной ткани, вызванного заражением или наличием поражений, некроза, спор, гифов, роста грибного мицелия, вилта, ожогов, пятен на плодах, гнили, галлов или остановки роста и т. д. Такие симптомы можно сравнить с

незараженными растениями, фотографиями или иллюстрациями зараженных растений или их комбинаций с определением наличия инфекции или идентичности патогена, или и того и другого. Фотографии и иллюстрации симптомов патогенной инфекции широко доступны в данной области техники и доступны, например, в American Phytopathological Society, St. Paul, Minn. 55121-2097. В некоторых случаях симптомы заметны невооруженным глазом или при определенном увеличении (например, 2х, 3х, 4х, 5х, 10х или 50х).

В некоторых случаях заражение или ассоциированный симптом можно определить с помощью коммерчески доступных наборов для тестирования для идентификации вредителей в растениях. Такие наборы для тестирования можно приобрести, например, в местных сельскохозяйственных учреждениях или кооперативах. В некоторых случаях идентификация сельскохозяйственной культуры, нуждающейся в обработке, осуществляется путем прогнозирования погодных и экологических условий, способствующих развитию болезни. В некоторых случаях специалисты в области поиска полей сельскохозяйственных культур в отношении заболеваний растений идентифицируют культуру, нуждающуюся в обработке.

В некоторых случаях инфекцию или ассоциированный симптом можно определить с помощью диагностических анализов на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР). Анализы на основе ПЦР можно использовать для выполнения ПЦР-амплификации последовательностей ДНК или РНК, специфических в отношении вредителя, в том числе хромосомной ДНК, митохондриальной ДНК или рибосомной РНК. Конкретные способы идентификации будут зависеть от патогена.

Можно заранее определить, что растение заражено вредителем. В качестве альтернативы способ также может включать идентификацию растений, имеющих заражение. Таким образом, также предусмотрены способы обработки заражения вредителями растений путем идентификации растения, зараженного вредителем растения (т. е., после заражения), и приведения инфицированного растения в контакт с эффективным количеством композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной) таким образом, что происходит обработка заражения. Зараженность можно измерить любыми воспроизводимыми способами измерения. Например, заражение можно измерить путем подсчета количества поражений на растении, заметных невооруженным глазом, или при заданном увеличении (например, 2х, 3х, 4х, 5х, 10х или 50х). В других случаях заражение можно измерить путем измерения концентрации вредителей на заданном участке растения или на участке, окружающем растение.

ii. Предупреждение вредителей

В данном документе предусмотрен способ предупреждения заражения растений у растения (например, растения, подверженного риску заражения), где способ предусматривает доставку композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной) растению (например, в эффективном количестве и

в течение эффективного периода времени) для уменьшения вероятности заражения по сравнению с вероятностью заражения необработанного растения. Например, способ может приводить к уменьшению вероятности заражения на приблизительно 1%, 2%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 99%, 100% или более 100% по сравнению с необработанным растением. В некоторых случаях способ может приводить к уменьшению вероятности заражения приблизительно в 2, 5, 10, 25, 50, 75, 100 или более 100 раз по сравнению с необработанным растением. Можно предупредить или уменьшить вероятность того, что вредители вызовут заболевание, ассоциированное с заболеванием симптомы или и то, и другое.

Способы и композиции, описанные в данном документе, можно применять для снижения или предупреждения заражения у растений, имеющих риск развития заражения, путем снижения приспособленности вредителей, которые заражают растения. В некоторых случаях композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная) может быть эффективной для ослабления заражения (например, снижения количества зараженных растений, снижения размера популяции вредителей, снижения повреждения растений) на приблизительно 2%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% или больше по сравнению с референтным уровнем (например, культурой, в которую не вводили композицию для контроля вредителей (например, биопестицидную или биорепеллентную)). В других случаях композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная) может быть эффективной для предупреждения или снижения вероятности заражения культур на приблизительно 2%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% или больше по сравнению с референтным уровнем (например, культурой, в которую не вводили композицию для контроля вредителей (например, биопестицидную или биорепеллентную)).

Эти профилактические способы могут быть пригодны для предупреждения заражения у растения, подверженного риску заражения, вредителем растения. Например, растение может представлять собой растение, которое не подвергалось воздействию вредителя растения, но растение может подвергаться риску заражения в обстоятельствах, когда вредители с большей вероятностью заразят растение, например, в оптимальных для вредителей климатических условиях. Риск для растений может быть дополнительно повышен в случаях, когда растение находится в среде обитания, в котором сорняки в среде обитания были обработаны гербицидом, и возможен переход заболевания от погибающего растения к растению, которое не полегло. В некоторых случаях идентификация сельскохозяйственной культуры, нуждающейся в обработке, осуществляется путем прогнозирования погодных и экологических условий, способствующих развитию болезни.

С помощью способов можно предупредить заражение в течение определенного периода времени после обработки композицией для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной). Например, с помощью способа можно предупреждать заражение растения в течение нескольких недель после применения

композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной). Например, заболевание можно предупредить в течение по меньшей мере приблизительно 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35 дней после обработки композицией для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной). В некоторых случаях заболевание предупреждается в течение по меньшей мере приблизительно 40 дней после доставки композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной) растению. Профилактика заболевания может быть измерена с помощью любых воспроизводимых способов измерения. В определенных случаях заражение оценивается через 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30 дней после доставки композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной).

В. Доставка вредителю растения

В данном документе предусмотрены способы доставки растению композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной), раскрытой в данном документе. Предусмотрены способы доставки композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной) вредителю путем приведения вредителя в контакт с композицией для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной). Способы могут быть пригодны для снижения приспособленности вредителя, например, для предупреждения или обработки заражения вредителем в результате доставки композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной).

Таким образом, эти способы можно применять для снижения приспособленности вредителя. В одном аспекте в данном документе предусмотрен способ снижения приспособленности вредителя, где способ предусматривает доставку вредителю композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной), описанной в данном документе (например, в эффективном количестве и в течение эффективного периода времени), для снижения приспособленности вредителя по сравнению с необработанным вредителем (например, вредителем, которому не была введена композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная)).

В одном аспекте в данном документе предусмотрен способ ослабления грибковой инфекции (например, обработки) у растения, пораженного грибковой инфекцией, где способ предусматривает доставку растению композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной), содержащей совокупность РМР (например, любой из композиций для контроля вредителей (например, биопестицидных или биорепеллентных), описанных в данном документе).

В другом аспекте в данном документе предусмотрен способ ослабления грибковой инфекции (например, обработки) у растения, пораженного грибковой инфекцией, где способ предусматривает доставку растению композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной), содержащей совокупность РМР

(например, любой из композиций для контроля вредителей (например, биопестицидных или биорепеллентных), описанных в данном документе), и где совокупность РМР содержит противогрибковое средство. В некоторых случаях противогрибковое средство представляет собой нуклеиновую кислоту, которая подавляет экспрессию гена (например, *dcl1* и *dcl2* (*m. e.*, *dcl1/2*) гриба, вызывающего грибковую инфекцию. В некоторых случаях грибковая инфекция вызвана грибом, принадлежащим к *Sclerotinia* spp. (например, *Sclerotinia sclerotiorum*), *Botrytis* spp. (например, *Botrytis cinerea*), *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. или *Penicillium* spp. В некоторых случаях композиция содержит РМР, полученный из EV апопласта *Arabidopsis*. В некоторых случаях способ ослабляет или в значительной степени устраняет грибковую инфекцию.

В другом аспекте в данном документе предусмотрен способ ослабления бактериальной инфекции (например, обработки) у растения, пораженного бактериальной инфекцией, где способ предусматривает доставку растению композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной), содержащей совокупность РМР (например, любой из композиций для контроля вредителей (например, биопестицидных или биорепеллентных), описанных в данном документе).

В другом аспекте в данном документе предусмотрен способ ослабления бактериальной инфекции (например, обработки) у растения, пораженного бактериальной инфекцией, где способ предусматривает доставку растению композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной), содержащей совокупность РМР, и где совокупность РМР содержит противобактериальное средство. В некоторых случаях противобактериальное средство представляет собой стрептомицин. В некоторых случаях бактериальная инфекция вызывается бактерией, принадлежащей к *Pseudomonas* spp (например, *Pseudomonas syringae* или *Pseudomonas aeruginosa*). В некоторых случаях композиция содержит РМР, полученный из EV апопласта *Arabidopsis*. В некоторых случаях способ снижает или в значительной степени устраняет бактериальную инфекцию. В некоторых случаях противобактериальное средство представляет собой ванкомицин.

В другом аспекте в данном документе предусмотрен способ снижения приспособленности насекомого-вредителя растения, где способ предусматривает доставку насекомому-вредителю растения композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной), содержащей совокупность РМР (например, любой из композиций для контроля вредителей (например, биопестицидных или биорепеллентных), описанных в данном документе).

В другом аспекте в данном документе предусмотрен способ снижения приспособленности насекомого-вредителя растения, где способ предусматривает доставку насекомому-вредителю растения композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной), содержащей совокупность РМР (например, любой из композиций для контроля вредителей (например, биопестицидных или биорепеллентных), описанных в данном документе), и где совокупность РМР содержит инсектицидное средство. В некоторых случаях инсектицидное средство представляет

собой пептидную нуклеиновую кислоту. В некоторых случаях насекомое-вредитель растения представляет собой тлю. В некоторых случаях насекомое-вредитель растения представляет собой чешуекрылое, например, *Spodoptera frugiperda*. В некоторых случаях способ снижает приспособленность насекомого-вредителя растения по сравнению с необработанным насекомым-вредителем растения.

В другом аспекте в данном документе предусмотрен способ снижения приспособленности нематоды-вредителя растения, где способ предусматривает доставку нематоды-вредителю растения композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной), содержащей совокупность РМР (например, любой из композиций для контроля вредителей (например, биопестицидных или биорепеллентных), описанных в данном документе).

В другом аспекте в данном документе предусмотрен способ снижения приспособленности нематоды-вредителя растения, где способ предусматривает доставку нематоды-вредителю растения композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной), содержащей совокупность РМР (например, любой из композиций для контроля вредителей (например, биопестицидных или биорепеллентных), описанных в данном документе), и где совокупность РМР содержит нематоцидное средство. В некоторых случаях нематоцидное средство представляет собой нейропептид, например, *Mi-NLP-15b*. В некоторых случаях нематода-вредитель растения представляет собой кукурузную корневую галловую нематоду. В некоторых случаях способ снижает приспособленность нематоды-вредителя растения по сравнению с необработанной нематодой-вредителем растения.

В другом аспекте в данном документе предусмотрен способ снижения приспособленности сорняка, где способ предусматривает доставку сорняку композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной), содержащей совокупность РМР (например, любой из композиций для контроля вредителей (например, биопестицидных или биорепеллентных), описанных в данном документе).

В другом аспекте в данном документе предусмотрен способ снижения приспособленности сорняка, где способ предусматривает доставку сорняку композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной), содержащей совокупность РМР (например, любой из композиций для контроля вредителей (например, биопестицидных или биорепеллентных), описанных в данном документе), и где совокупность РМР содержит гербицидное средство (например, доксорубицин или глюфосинат). В некоторых случаях сорняк представляет собой элевсину индийскую (*Eleusine indica*). В некоторых случаях способ снижает приспособленность сорняка по сравнению с необработанным сорняком.

Снижение приспособленности вредителя в результате доставки композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной) может проявляться различными способами. В некоторых случаях снижение приспособленности вредителя может проявляться в виде ухудшения или снижения физиологических функций

вредителя (например, ухудшение состояния здоровья или выживаемости) в результате доставки композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной). В некоторых случаях приспособленность организма может быть измерена с помощью одного или нескольких параметров, в том числе без ограничения скорости воспроизводства, фертильности, продолжительности жизни, жизнеспособности, подвижности, репродуктивной способности, развития вредителя, массы тела, скорости метаболизма или активности или выживаемости по сравнению с вредителем, которому композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная) не была введена. Например, способы или композиции, предусмотренные в данном документе, могут быть эффективными для снижения общего состояния здоровья вредителя или для снижения общей выживаемости вредителя. В некоторых случаях снижение выживаемости вредителя составляет приблизительно 2%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% или более 100% по сравнению с референтным уровнем (например, уровнем, встречающимся у вредителя, который не получает композицию для контроля вредителей (например, биопестицидную или биорепеллентную)). В некоторых случаях способы и композиции эффективны для снижения размножения вредителей (например, скорости размножения, фертильности) по сравнению с вредителем, которому композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная) не была введена. В некоторых случаях способы и композиции эффективны для снижения других физиологических параметров, таких как подвижность, масса тела, продолжительность жизни, репродуктивная способность или скорость метаболизма, на приблизительно 2%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% или более 100% по сравнению с референтным уровнем (например, уровнем, встречающимся у вредителя, который не получает композицию для контроля вредителей (например, биопестицидную или биорепеллентную)).

В некоторых случаях снижение приспособленности вредителя может проявляться в виде снижения образования одного или нескольких питательных веществ в организме вредителя (например, витаминов, углеводов, аминокислот или полипептидов) по сравнению с вредителем, которому композиция для контроля вредителей не была введена. В некоторых случаях способы или композиции, предусмотренные в данном документе, могут быть эффективными для снижения образования питательных веществ в организме вредителя (например, витаминов, углеводов, аминокислот или полипептидов) на приблизительно 2%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% или более 100% по сравнению с референтным уровнем (например, уровнем, встречающимся у вредителя, который не получает композицию для контроля вредителей (например, биопестицидную или биорепеллентную)).

В некоторых случаях снижение приспособленности вредителя может проявляться в виде повышения восприимчивости вредителя к пестицидному средству и/или снижения устойчивости вредителя к пестицидному средству по сравнению с вредителем, которому композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная)

не была введена. В некоторых случаях способы или композиции, предусмотренные в данном документе, могут быть эффективными для повышения восприимчивости вредителя к пестицидному средству на приблизительно 2%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% или более 100% по сравнению с референтным уровнем (например, уровнем, встречающимся у вредителя, который не получает композицию для контроля вредителей (например, биопестицидную или биорепеллентную)). Пестицидное средство может представлять собой любое пестицидное средство, известное в данной области техники, в том числе инсектицидные средства. В некоторых случаях способы или композиции, предусмотренные в данном документе, могут повышать восприимчивость вредителя к пестицидному средству посредством снижения способности вредителя метаболизировать пестицидное средство или расщеплять его на пригодные к использованию субстраты, по сравнению с вредителем, которому композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная) не была введена.

В некоторых случаях снижение приспособленности вредителя может проявляться в виде повышения восприимчивости вредителя к аллелохимическому средству и/или снижения устойчивости вредителя к аллелохимическому средству по сравнению с вредителем, которому композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная) не была введена. В некоторых случаях способы или композиции, предусмотренные в данном документе, могут быть эффективными для снижения устойчивости вредителя к аллелохимическому средству на приблизительно 2%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% или более 100% по сравнению с референтным уровнем (например, уровнем, встречающимся у вредителя, который не получает композицию для контроля вредителей (например, биопестицидную или биорепеллентную)). В некоторых случаях аллелохимическое средство представляет собой кофеин, цистатин сои, фенитроцион, монотерпены, дитерпеновые кислоты или фенольные соединения (например, танины, флавоноиды). В некоторых случаях способы или композиции, предусмотренные в данном документе, могут повышать восприимчивость вредителя к аллелохимическому средству посредством снижения способности вредителя метаболизировать аллелохимическое средство или расщеплять его на пригодные к использованию субстраты, по сравнению с вредителем, которому композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная) не была введена.

В некоторых случаях способы или композиции, предусмотренные в данном документе, могут быть эффективными для снижения устойчивости вредителя к паразитам или патогенам (например, грибным, бактериальным или вирусным патогенам или паразитам) по сравнению с вредителем, которому композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная) не была введена. В некоторых случаях способы или композиции, предусмотренные в данном документе, могут быть эффективными для снижения устойчивости вредителя к патогену или паразиту (например, грибным, бактериальным или вирусным патогенам; или паразитическим клещам) на приблизительно 2%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% или более

100% по сравнению с референтным уровнем (например, уровнем, встречающимся у вредителя, который не получает композицию для контроля вредителей (например, биопестицидную или биорепеллентную)).

В некоторых случаях способы или композиции, предусмотренные в данном документе, могут быть эффективными для снижения способности вредителя переносить или передавать патоген растений (например, вирус растений (например, TYLCV)) или бактерию растений (например, *Agrobacterium spp*) по сравнению с вредителем, которому композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная) не была введена. Например, способы или композиции, предусмотренные в данном документе, могут быть эффективными для снижения способности вредителя переносить или передавать патоген растений (например, вирус растений (например, TYLCV)) или бактерию растений (например, *Agrobacterium spp*) на приблизительно 2%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% или более 100% по сравнению с референтным уровнем (например, уровнем, встречающимся у вредителя, который не получает композицию для контроля вредителей (например, биопестицидную или биорепеллентную)).

В качестве дополнения или в качестве альтернативы в случаях, когда гербицид включен в РМР или композиции на его основе, способы могут быть дополнительно применяться для снижения приспособленности или уничтожения сорняков. В таких случаях способ может быть эффективным для снижения приспособленности сорняка на приблизительно 2%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% или больше по сравнению с необработанным сорняком (например, сорняком, которому не была введена композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная)). Например, способ может быть эффективным для уничтожения сорняков, тем самым уменьшая популяцию сорняков на приблизительно 2%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% или больше по сравнению с необработанным сорняком. В некоторых случаях этот способ в значительной степени устраняет сорняк. Примеры сорняков, которые можно обрабатывать в соответствии со способами по настоящему изобретению, описаны ниже.

В некоторых случаях снижение приспособленности вредителя может проявляться в виде других недостатков приспособленности, таких как пониженная переносимость определенных факторов окружающей среды (например, переносимость высокой или низкой температуры), пониженная способность к выживанию в определенных средах обитания или пониженная способность к поддержанию определенного рациона по сравнению с вредителем, которому композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная) не была введена. В некоторых случаях способы или композиции, предусмотренные в данном документе, могут быть эффективными для снижения приспособленности вредителя множеством путей, описанных в данном документе. Кроме того, композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная) может снижать приспособленность вредителей к любому

количеству классов, порядков, семейств, родов или видов вредителей (например, 1 виду вредителей, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 500 или более видам вредителей). В некоторых случаях композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная) действует на один класс, отряд, семейство, род или вид вредителей.

Приспособленность вредителя может быть оценена с помощью любых стандартных способов в данной области техники. В некоторых случаях приспособленность вредителя может быть оценена посредством оценки отдельного вредителя. В качестве альтернативы, приспособленность вредителя может быть оценена посредством оценки популяции вредителей. Например, снижение приспособленности вредителя может проявляться в виде снижения степени успешной конкуренции по сравнению с другими насекомыми, что тем самым приводит к уменьшению размера популяции вредителей.

С. Способы применения

Вредитель, описанный в данном документе, может подвергаться воздействию любой из композиций, описанных в данном документе, любым подходящим способом, который обеспечивает доставку или введение композиции вредителю. Композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная) может быть доставлена в отдельности или в комбинации с другими активными (например, пестицидными средствами) или неактивными веществами и может применяться, например, посредством распыления, инъекции (например, микроинъекции), через растения, посредством полива, погружения, в форме концентрированных жидкостей, гелей, растворов, суспензий, спреев, порошков, пеллет, брикетов, плиток и т. п., составленных для доставки эффективной концентрации композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной). Количества и места для применения композиций, описанных в данном документе, как правило, определяются условиями обитания вредителя, стадией жизненного цикла, на которой на вредителя можно целенаправленно воздействовать с помощью композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной), участком, в котором применение должно выполняться, а также физическими и функциональными характеристиками композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной). Композиции для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная), описанные в данном документе, можно вводить вредителю путем перорального заглатывания, однако также можно вводить с помощью средств, которые обеспечивают проникновение через кутикулу или проникновение в дыхательную систему вредителя.

В некоторых случаях вредитель может быть просто "намочен" или "опрыскан" раствором, содержащим композицию для контроля вредителей (например, биопестицидную или биорепеллентную). В качестве альтернативы, композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная) может быть связана с пищевым компонентом (например, съедобным) для вредителя для облегчения

доставки и/или в целях повышения поглощения композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной) вредителем. Способы перорального введения включают, например, непосредственное смешивание композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной) с пищей для вредителя, распыления композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной) в среде обитания вредителя или поле, а также подходы на основе конструирования, в которых вид, который применяется в качестве пищи, конструируется с целью экспрессии композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной), после чего скармливается вредителю, подлежащему воздействию. В некоторых случаях, например, композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная) может быть включена в состав рациона вредителя или наложена поверх него. Например, композицию для контроля вредителей (например, биопестицидную или биорепеллентную) можно распылять на поле с сельскохозяйственными культурами, на которых вредитель обитает.

В некоторых случаях композицию распыляют непосредственно на растение, например, сельскохозяйственные культуры, например, путем распыления из рюкзака, распыления с воздуха, опрыскивания/опыления растительных культур и т. д. В случаях, когда композицию для контроля вредителей (например, биопестицидную или биорепеллентную) доставляют растению, растение, получающее композицию для контроля вредителей (например, биопестицидную или биорепеллентную), может находиться на любой стадии роста растения. Например, составленные композиции для контроля вредителей (например, биопестицидные или биорепеллентные) могут быть нанесены в виде покрытия для семян или корневой обработки на ранних стадиях роста растения или в виде общей обработки растения на более поздних стадиях цикла урожая. В некоторых случаях композицию для контроля вредителей (например, биопестицидную или биорепеллентную) можно применять в отношении растения в качестве местного средства, так чтобы вредитель заглатывал или иным образом приходил в контакт с растением при взаимодействии с растением.

Кроме того, композицию для контроля вредителей (например, биопестицидную или биорепеллентную) можно применять (например, в отношении почвы, в которой растение растет, или в отношении воды, которую используют для полива растения) в качестве системного средства, которое поглощается и распределяется по тканям вредителя растения или животного таким образом, что вредитель, питающийся на нем, будет получать эффективную дозу композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной). В некоторых случаях растения или организмы, используемые в качестве пищи, могут быть генетически трансформированы для экспрессии композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной) таким образом чтобы вредитель, питающийся на растении или организме, используемом в качестве пищи, заглатывал композицию для контроля вредителей (например, биопестицидную или биорепеллентную).

Замедленное или непрерывное высвобождение также может достигаться посредством покрытия композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной) или композиции с композицией (композициями) для контроля вредителей (например, биопестицидной (биопестицидными) или биорепеллентной (биорепеллентными)) растворимым или биоразрушаемым слоем покрытия, таким как желатин, при этом данное покрытие растворяется или разрушается в среде применения, что затем делает композицию для контроля вредителей (например, биопестицидную или биорепеллентную) доступной, или посредством диспергирования средства в растворимой или разрушаемой матрице. Такое непрерывное высвобождение и/или распределение означает, что устройства могут быть предпочтительно использованы для устойчивого поддержания эффективной концентрации одной или нескольких композиций для контроля вредителей (например, биопестицидных или биорепеллентных), описанных в данном документе, в конкретной среде обитания вредителя.

Композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная) также может быть включена в среду, в которой вредитель растет, живет, размножается, питается или осуществляет заражение. Например, композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная) может быть включена в контейнер для пищи, кормушку, защитную обертку или улей. В некоторых путях применения композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная) может быть связана с твердой подложкой для применения в порошкообразной форме или в "ловушке" или "кормушке". В качестве примера, в путях применения, в которых композиция подлежит применению в ловушке или в виде приманки для определенного вредителя, композиции также могут быть связаны с твердой подложкой или инкапсулированы в материал с медленным высвобождением. Например, композиции, описанные в данном документе, можно вводить посредством доставки композиции в по меньшей мере одну среду обитания, где сельскохозяйственный вредитель (например, тля) растет, живет, размножается или питается.

Пестициды часто рекомендуются для полевого применения в виде количества пестицида на гектар (г/га или кг/га) или количества активного ингредиента или кислотного эквивалента на гектар (кг а.и./га или г а.и./га). В некоторых случаях может потребоваться меньшее количество пестицида в композициях по настоящему изобретению для нанесения на почву, среду для растения, семена, ткань растений или растения для достижения тех же результатов, что и в случае применения пестицида в композиции, не содержащей РМР. Например, количество пестицидного средства может применяться на уровнях приблизительно в 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30, 50 или 100 раз меньше (или в любом диапазоне между приблизительно в 2 и приблизительно в 100 раз, например, приблизительно в 2-10 раз; приблизительно в 5-15 раз, приблизительно в 10-20 раз; приблизительно в 10-50 раз) меньше, чем то же пестицидное средство, применяемое в композиции, не содержащей РМР, например, при прямом нанесении того же пестицидного средства. Композиции для контроля вредителей (например,

биопестицидные или биорепеллентные) по настоящему изобретению могут применяться в различных количествах на гектар, например, приблизительно 0,0001, 0,001, 0,005, 0,01, 0,1, 1, 2, 10, 100, 1000, 2000, 5000 (или любой диапазон от 0,0001 до 5000) кг/га. Например, от приблизительно 0,0001 до приблизительно 0,01, от приблизительно 0,01 до приблизительно 10, от приблизительно 10 до приблизительно 1000, от приблизительно 1000 до приблизительно 5000 кг/га.

III. Растения

Различным растениям можно доставлять композицию для контроля вредителей (например, биопестицидную или биорепеллентную), описанную в данном документе, или обрабатывать их ею. Растения, в которые может быть доставлена композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная) (т.е., которые могут быть "обработанными") в соответствии со способами по настоящему изобретению включают целые растения и их части, в том числе без ограничения органы/структуры вегетативных побегов (например, листья, стебли и клубни), корни, цветки и органы/структуры цветков (например, прицветники, чашелистики, лепестки, тычинки, плодолистики, пыльники и семяпочки), семена (в том числе зародыш, эндосперм, семядоли и оболочку семян) и плоды (зрелую завязь), растительную ткань (например, сосудистую ткань, основную паренхиму и т. п.) и клетки (например, замыкающие клетки, яйцеклетки и т. п.) и их потомство. Части растения могут также относиться к частям растения, таким как побег, корень, стебель, семена, прилистники, листья, лепестки, цветки, семяпочки, прицветники, ветви, черешки, междоузлия, кора, опушение, побеги, корневища, вайи, пластинки, пыльца, тычинки и т. п.

Класс растений, которые можно обрабатывать способом, описанным в данном документе, включает класс высших и низших растений, в том числе покрытосеменные (однодольные и двудольные), голосеменные, папоротники, хвощи, псилофиты, ликофиты, мохообразные и водоросли (например, многоклеточные или одноклеточные водоросли). Растения, которые можно обрабатывать в соответствии со способами по настоящему изобретению, дополнительно включают любые сосудистые растения, например, однодольные, двудольные или голосеменные, в том числе без ограничения люцерну, яблоню, растение рода *Arabidopsis*, банан, ячмень, канолу, клещевину, цикорий, хризантему, клевер, какао, кофе, хлопчатник, семена хлопчатника, кукурузу, крамбе, клюкву, огурец, дендробиум, диоскорею, эвкалипт, овсяницу, лен, гладиолус, лилейное, семена льна, просо, дыню, горчицу, овес, масличную пальму, масличный рапс, папайю, арахис, ананас, декоративные растения, фасоль, картофель, рапс, рис, рожь, райграс, сафлор, кунжут, сорго, сою, сахарную свеклу, сахарный тростник, подсолнечник, клубнику, табак, томат, газонную траву, пшеницу и овощные культуры, такие как салат, сельдерей, брокколи, цветная капуста, тыквенные культуры; фруктовые и ореховые деревья, такие как яблоня, груша, персик, апельсин, грейпфрут, лимон, лайм, миндаль, пекан, грецкий орех, лещина; вьющиеся растения, такие как виноград (например, виноградник), киви, хмель; плодовые кустарники и колючие кустарники, такие как

малина, ежевика, крыжовник; лесные деревья, такие как ясень, сосна, пихта, клен, дуб, каштан, тополь; с люцерной, канолой, клещевинной, кукурузой, хлопчатником, крамбе, льном, семенем льна, горчицей, масличной пальмой, масличным рапсом, арахисом, картофелем, рисом, сафлором, кунжутом, соей, сахарной свеклой, подсолнечником, табаком, томатом или пшеницей. Растения, которые можно обрабатывать в соответствии со способами по настоящему изобретению, включают любую сельскохозяйственную культуру, например, кормовую культуру, масличную культуру, зерновую культуру, плодovou культуру, овощную культуру, волокнистую культуру, пряную культуру, ореховую культуру, газонную культуру, сахарную культуру, культуру для производства напитков и лесную культуру. В определенных случаях сельскохозяйственная культура, которую обрабатывают в соответствии с этим способом, представляет собой растение сои. В других определенных случаях сельскохозяйственная культура представляет собой пшеницу. В определенных случаях сельскохозяйственная культура представляет собой кукурузу. В определенных случаях сельскохозяйственная культура представляет собой хлопчатник. В определенных случаях сельскохозяйственная культура представляет собой люцерну. В определенных случаях сельскохозяйственная культура представляет собой сахарную свеклу. В определенных случаях сельскохозяйственная культура представляет собой рис. В определенных случаях сельскохозяйственная культура представляет собой томат. В определенных случаях сельскохозяйственная культура представляет собой картофель.

В определенных случаях растение представляет собой культуру. Примеры таких сельскохозяйственных культур включают без ограничения однодольные и двудольные растения, в том числе без ограничения кормовые растения или кормовые бобовые растения, декоративные растения, продовольственные культуры, деревья или кустарники, выбранные из *Acer* spp., *Allium* spp., *Amaranthus* spp., *Ananas comosus*, *Apium graveolens*, *Arachis* spp, *Asparagus officinalis*, *Beta vulgaris*, *Brassica* spp. (например, *Brassica napus*, *Brassica rapa* ssp. (канола, масличный рапс, репа масличная), *Camellia sinensis*, *Canna indica*, *Cannabis saliva*, *Capsicum* spp., *Castanea* spp., *Cichorium endivia*, *Citrullus lanatus*, *Citrus* spp., *Cocos* spp., *Coffea* spp., *Coriandrum sativum*, *Corylus* spp., *Crataegus* spp., *Cucurbita* spp., *Cucumis* spp., *Daucus carota*, *Fagus* spp., *Ficus carica*, *Fragaria* spp., *Ginkgo biloba*, *Glycine* spp. (например, *Glycine max*, *Soja hispida* или *Soja max*), *Gossypium hirsutum*, *Helianthus* spp. (например, *Helianthus annuus*), *Hibiscus* spp., *Hordeum* spp. (например, *Hordeum vulgare*), *Ipomoea batatas*, *Juglans* spp., *Lactuca sativa*, *Linum usitatissimum*, *Litchi chinensis*, *Lotus* spp., *Luffa acutangula*, *Lupinus* spp., *Lycopersicon* spp. (например, *Lycopersicon esculentum*, *Lycopersicon lycopersicum*, *Lycopersicon pyriforme*), *Malus* spp., *Medicago sativa*, *Mentha* spp., *Miscanthus sinensis*, *Morus nigra*, *Musa* spp., *Nicotiana* spp., *Olea* spp., *Oryza* spp. (например, *Oryza sativa*, *Oryza latifolia*), *Panicum miliaceum*, *Panicum virgatum*, *Passiflora edulis*, *Petroselinum crispum*, *Phaseolus* spp., *Pinus* spp., *Pistacia vera*, *Pisum* spp., *Poa* spp., *Populus* spp., *Prunus* spp., *Pyrus communis*, *Quercus* spp., *Raphanus sativus*, *Rheum rhabarbarum*, *Ribes* spp., *Ricinus communis*, *Rubus* spp., *Saccharum* spp., *Salix*

sp., Sambucus spp., Secale cereale, Sesamum spp., Sinapis spp., Solanum spp. (например, Solanum tuberosum, Solanum integrifolium or Solanum lycopersicum), Sorghum bicolor, Sorghum halepense, Spinacia spp., Tamarindus indica, Theobroma cacao, Trifolium spp., Triticosecale rimpai, Triticum spp. (например, Triticum aestivum, Triticum durum, Triticum turgidum, Triticum hybernum, Triticum macha, Triticum sativum или Triticum vulgare), Vaccinium spp., Vicia spp., Vigna spp., Viola odorata, Vitis spp. и Zea mays. В определенных вариантах осуществления сельскохозяйственная культура представляет собой рис, масличный рапс, рапс, сою, кукурузу (маис), хлопчатник, сахарный тростник, люцерну, сорго или пшеницу.

В определенном случае композиции и способы можно применять для обработки растений или частей растений, пищевых продуктов или кормовых продуктов после сбора урожая. В некоторых случаях пищевой или кормовой продукт представляет собой нерастительный пищевой или кормовой продукт (например, продукт, съедобный для людей, ветеринарных животных или домашнего скота (например, грибы)).

Растение или часть растения для применения в настоящем изобретении включают растения на любой стадии развития растения. В определенных случаях доставка может происходить на стадиях прорастания, роста проростков, вегетативного роста и репродуктивного роста. В определенных случаях доставка растению происходит на стадиях вегетативного и репродуктивного роста. В качестве альтернативы доставка может происходить в семя. Стадии вегетативного и репродуктивного роста также называются в данном документе как "взрослые" или "зрелые" растения.

IV. Вредители

Композиции для контроля вредителей (например, биопестицидные или биорепеллентные) и соответствующие способы, описанные в данном документе, пригодны для снижения приспособленности вредителей растений и, таким образом, обработки или предупреждения заражения растений вредителями. "Вредители" относятся к беспозвоночным, например, насекомым, нематодам или моллюскам, микроорганизмам (например, фитопатогенам, эндофитам, облигатным паразитам, факультативным паразитам или факультативным сапрофитам), таким как бактерии, грибы, вирусы или сорняки. Такие вредители причиняют вред растениям или другим организмам, присутствуют там, где они нежелательны, или в иных отношениях наносят ущерб людям, например, воздействуя на способы или продукты сельского хозяйства людей.

Примеры вредителей растений, которые можно обрабатывать композициями по настоящему изобретению или с помощью соответствующих способов по настоящему изобретению, описаны ниже.

A. Грибы

Композиции для контроля вредителей (например, биопестицидные или биорепеллентные) и соответствующие способы могут быть пригодны для снижения приспособленности гриба, например, для предупреждения или обработки грибковой инфекции у растения. Предусмотрены способы доставки композиции для контроля

вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной) грибу путем приведения гриба в контакт с композицией для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной). В качестве дополнения или в качестве альтернативы способы предусматривают доставку композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной) растению, имеющему риск заражения грибковой инфекцией или пораженному ей, путем приведения растения в контакт с композицией для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной).

Композиции для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная) и соответствующие способы являются подходящими для доставки грибам, которые вызывают грибковые заболевания у растений, в том числе заболевания, вызываемые возбудителями мучнистой росы, например, видами рода *Blumeria*, например, *Blumeria graminis*; видами рода *Podosphaera*, например, *Podosphaera leucotricha*; видами рода *Sphaerotheca*, например, *Sphaerotheca fuliginea*; видами рода *Uncinula*, например, *Uncinula necator*; заболеваниями, вызываемые возбудителями ржавчинного заболевания, например, видами рода *Gymnosporangium*, например, *Gymnosporangium sabinae*; видами рода *Hemileia*, например, *Hemileia vastatrix*; видами рода *Phakopsora*, например, *Phakopsora pachyrhizi* и *Phakopsora meibomia*; видами рода *Puccinia*, например, *Puccinia recondite*, *P. triticea*, *P. graminis* или *P. striiformis* или *P. hordei*; видами рода *Uromyces*, например, *Uromyces appendiculatus*; заболеваниями, вызываемые патогенами из группы *Oomycetes*, например, видами рода *Albugo*, например, *Albugo candida*; видами рода *Bremia*, например, *Bremia lactucae*; видами рода *Peronospora*, например, *Peronospora pisi*, *P. parasitica* или *P. brassicae*; видами рода *Phytophthora*, например, *Phytophthora infestans*; видами рода *Plasmopara*, например, *Plasmopara viticola*; видами рода *Pseudoperonospora*, например, *Pseudoperonospora humuli* или *Pseudoperonospora cubensis*; видами рода *Pythium*, например, *Pythium ultimum*; заболевания, связанные с пятнистостью листьев, и заболевания, связанные с вилтом листьев, вызываемые, например, видами рода *Alternaria*, например, *Alternaria solani*; видами рода *Cercospora*, например, *Cercospora beticola*; видами рода *Cladosporium*, например, *Cladosporium cucumerinum*; видами рода *Cochliobolus*, например, *Cochliobolus sativus* (конидиальная форма: *Drechslera*, Syn: *Helminthosporium*), *Cochliobolus miyabeanus*; видом *Colletotrichum*, например, *Colletotrichum lindemuthianum*; видами рода *Cycloconium*, например, *Cycloconium oleaginum*; видами рода *Diaporthe*, например, *Diaporthe citri*; видами рода *Elsinoe*, например, *Elsinoe fawcettii*; видами рода *Gloeosporium*, например, *Gloeosporium laeticolor*; видами рода *Glomerella*, например, *Glomerella cingulata*; видами рода *Guignardia*, например, *Guignardia bidwellii*; видами рода *Leptosphaeria*, например, *Leptosphaeria maculans*, *Leptosphaeria nodorum*; видами рода *Magnaporthe*, например, *Magnaporthe grisea*; видами рода *Microdochium*, например, *Microdochium nivale*; видами рода *Mycosphaerella*, например, *Mycosphaerella graminicola*, *M. arachidicola* и *M. fijiensis*; видами рода *Phaeosphaeria*, например, *Phaeosphaeria nodorum*; видами рода *Pyrenophora*, например, *Pyrenophora teres*, *Pyrenophora tritici repentis*; видами рода *Ramularia*,

например, *Ramularia collo-cygni*, *Ramularia areola*; видами рода *Rhynchosporium*, например, *Rhynchosporium secalis*; видом *Septoria*, например, *Septoria apii*, *Septoria lycopersii*; видами рода *Typhula*, например, *Typhula incarnata*; видами рода *Venturia*, например, *Venturia inaequalis*; заболевания корней и стеблей, вызываемые, например, видами рода *Corticium*, например, *Corticium graminearum*; видами рода *Fusarium*, например, *Fusarium oxysporum*; видами рода *Gaeumannomyces*, например, *Gaeumannomyces graminis*; видами рода *Rhizoctonia*, таким как, например, *Rhizoctonia solani*; заболевания, вызываемые *Sarocladium*, например, *Sarocladium oryzae*; заболевания, вызываемые *Sclerotium*, вызываемые, например, *Sclerotium oryzae*; видами рода *Tapesia*, например, *Tapesia acuformis*; видами рода *Thielaviopsis*, например, *Thielaviopsis basicola*; заболевания початков и метелок (в том числе початков кукурузы), вызываемые, например, видами рода *Alternaria*, например, *Alternaria spp.*; видами рода *Aspergillus*, например, *Aspergillus flavus*; видами рода *Cladosporium*, например, *Cladosporium cladosporioides*; видами рода *Claviceps*, например, *Claviceps purpurea*; видами рода *Fusarium*, например, *Fusarium culmorum*; видами рода *Gibberella*, например, *Gibberella zeae*; видами рода *Monographella*, например, *Monographella nivalis*; видами рода *Septoria*, например, *Septoria nodorum*; заболевания, вызываемые головневыми грибами, например, видами рода *Sphacelotheca*, например, *Sphacelotheca reiliana*; видами рода *Tilletia*, например, *Tilletia caries*, *T. controversa*; видами рода *Urocystis*, например, *Urocystis occulta*; видами рода *Ustilago*, например, *Ustilago nuda*, *U. nuda tritici*; плодовая гниль, *вызываемая*, например, видами рода *Aspergillus*, например, *Aspergillus flavus*; видами рода *Botrytis*, например, *Botrytis cinerea*; видами рода *Penicillium*, например, *Penicillium expansum* и *P. purpurogenum*; видами рода *Sclerotinia*, например, *Sclerotinia sclerotiorum*; видами рода *Verticillium*, например, *Verticillium albo-atrum*; гниение, передаваемое через семена и почву, заболевания, вызываемые плесневыми грибами, вилт, гниение и загнивание проростков, например, вызываемые видами рода *Alternaria*, вызываемые, например, *Alternaria brassicicola*; видами рода *Aphanomyces*, вызываемые, например, *Aphanomyces euteiches*; видами рода *Ascochyta*, вызываемые, например, *Ascochyta lentis*; видам *Aspergillus*, вызываемые, например, *Aspergillus flavus*; видами рода *Cladosporium*, например, *Cladosporium herbarum*; видами рода *Cochliobolus*, вызываемые, например, *Cochliobolus sativus*; (конидиальная форма: *Drechslera*, *Bipolaris*, Syn: *Helminthosporium*); видами рода *Colletotrichum*, вызываемые, например, *Colletotrichum coccodes*; видами рода *Fusarium*, вызываемые, например, *Fusarium culmorum*; видами рода *Gibberella*, вызываемые, например, *Gibberella zeae*; видами рода *Macrophomina*, вызываемые, например, *Macrophomina phaseolina*; видами рода *Monographella*, вызываемые, например, *Monographella nivalis*; видами рода *Penicillium*, вызываемые, например, *Penicillium expansum*; видам *Phoma*, вызываемые, например, *Phoma lingam*; видами рода *Phomopsis*, вызываемые, например, *Phomopsis sojae*; видами рода *Phytophthora*, вызываемые, например, *Phytophthora cactorum*; видами рода *Pyrenophora*, вызываемые, например, *Pyrenophora graminea*; видами рода *Pyricularia*, вызываемые, например, *Pyricularia oryzae*;

видами рода *Pythium*, вызываемые, например, *Pythium ultimum*; видами рода *Rhizoctonia*, вызываемые, например, *Rhizoctonia solani*; видами рода *Rhizopus*, вызываемые, например, *Rhizopus oryzae*; видами рода *Sclerotium*, вызываемые, например, *Sclerotium rolfsii*; видами рода *Septoria*, вызываемые, например, *Septoria nodorum*; видам *Typhula*, вызываемые, например, *Typhula incarnata*; видам *Verticillium*, вызываемые, например, *Verticillium dahliae*; злокачественные опухоли, галлы и виды ведьминых метел, вызываемые, например, видами рода *Nectria*, например, *Nectria galligena*; заболевания, связанные с вилтом, вызываемые, например, видами рода *Monilinia*, например, *Monilinia laxa*; заболевания, связанные с пузырчатостью листьев или курчавостью листьев, вызываемые, например, видами рода *Exobasidium*, например, *Exobasidium vexans*; видами рода *Taphrina*, например, *Taphrina deformans*; заболевания, связанные с увяданием, древесных деревьев, вызываемые, например, заболеванием эска, вызываемые, например, *Phaemoniella clamydospora*, *Phaeoacremonium aleophilum* и *Fomitiporia mediterranea*; усыхание, вызванное *Eutypa*, вызванное, например, *Eutypa lata*; заболевания, вызываемые *Ganoderma*, вызываемые, например, *Ganoderma boninense*; заболевания, вызываемые *Rigidoporus*, например, *Rigidoporus lignosus*; заболевания цветков или семян, вызываемые, например, видами рода *Botrytis*, например, *Botrytis cinerea*; заболевания клубней растений, вызываемые, например, видами рода *Rhizoctonia*, например, *Rhizoctonia solani*; видами рода *Helminthosporium*, например, *Helminthosporium solani*; кила, вызванная, например, видами рода *Plasmodiophora*, например, *Plasmodiophora brassicae*; заболевания, вызываемые бактериальными патогенами, например, видами рода *Xanthomonas*, например, *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*; видами рода *Pseudomonas*, например, *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*; видами рода *Erwinia*, например, *Erwinia amylovora*.

Грибковые заболевания листьев, стеблей, стручков и семян, вызываемые, например, пятнистостью листьев *Alternaria* (*Alternaria spec. atrans tenuissima*), антракноз (*Colletotrichum gloeosporoides dematium* var. *truncatum*), бурая пятнистость (*Septoria glycines*), церкоспориозная пятнистость и ожог листьев (*Cercospora kikuchii*), ожог листьев, вызванный *Choanephora* (*Choanephora infundibulifera trispora* (Syn.)), ожог листьев, вызванный *Dactuliophora* (*Dactuliophora glycines*), ложная мучнистая роса (*Peronospora manshurica*), ожог, вызванный *Drechslera* (*Drechslera glycini*), сененофомозная пятнистость злаковых трав (*Cercospora sojae*), пятнистость листьев, вызванная *Leptosphaerulina* (*Leptosphaerulina trifolii*), пятнистость листьев, вызванная *Phyllosticta* (*Phyllosticta sojaecola*), ожог стручков и стеблей (*Phomopsis sojae*), настоящая мучнистая роса (*Microsphaera diffusa*), пятнистость листьев, вызванная *Pyrenochaeta* (*Pyrenochaeta glycines*), ожог вследствие ризоктониоза, воздушного, листовенного и сетчатого ожога (*Rhizoctonia solani*), ржавчина (*Phakopsora pachyrhizi*, *Phakopsora meibomia*), парша (*Sphaceloma glycines*), ожог листьев вследствие стемфилиоза (*Stemphylium botryosum*), мишеневидная пятнистость (*Corynespora cassiicola*).

Грибковые заболевания корней и основания стебля, вызываемые, например, черной корневой гнилью (*Calonectria crotalariae*), угольной гнилью (*Macrophomina phaseolina*),

фузариозной гнилью или вилтом, корневой гнилью, стручковой гнилью и гнилью ветвей (*Fusarium oxysporum*, *Fusarium orthoceras*, *Fusarium semitectum*, *Fusarium equiseti*), корневой гнилью, вызываемой *Mycleptodiscus* (*Mycleptodiscus terrestris*), неокосмоспориозом (*Neocosmospora vasinfecta*), ожогом стручков и стеблей (*Diaporthe phaseolorum*), раком стебля (*Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora*), фитофторозной гнилью (*Phytophthora megasperma*), бурой гнилью стеблей сои (*Phialophora gregata*), грибковой гнилью (*Pythium aphanidermatum*, *Pythium irregulare*, *Pythium debaryanum*, *Pythium myriotylum*, *Pythium ultimum*), корневой гнилью, стеблевой гнилью и ризоктиниозом, вызываемыми *Rhizoctonia* (*Rhizoctonia solani*), склеротиниозом стеблей (*Sclerotinia sclerotiorum*), южным склеротиниозом стеблей (*Sclerotinia rolfsii*), корневой гнилью, вызываемой *Thielaviopsis* (*Thielaviopsis basicola*).

В определенных случаях гриб представляет собой *Sclerotinia* spp (*Sclerotinia sclerotiorum*). В определенных случаях гриб представляет собой *Botrytis* spp (например, *Botrytis cinerea*). В определенных случаях гриб представляет собой *Aspergillus* spp. В определенных случаях гриб представляет собой *Fusarium* spp. В определенных случаях гриб представляет собой *Penicillium* spp.

Композиции по настоящему изобретению пригодны в различных путях применения для контроля грибов. Вышеописанные композиции можно использовать для контроля грибковых фитопатогенов до сбора урожая или грибковых патогенов после сбора урожая. В одном варианте осуществления любую из описанных выше композиций используют для контроля целевых патогенов, таких как виды *Fusarium*, виды *Botrytis*, виды *Verticillium*, виды *Rhizoctonia*, виды *Trichoderma* или *Pythium*, путем нанесения композиции на растения, участок, окружающий растения, или съедобные культивируемые грибы, грибницу или грибной компост. В другом варианте осуществления композиции по настоящему изобретению используют для контроля патогенов после сбора урожая, таких как виды *Penicillium*, *Geotrichum*, *Aspergillus niger* и *Colletotrichum*.

В Таблице 1 представлены дополнительные примеры грибов и ассоциированных с ними заболеваний растений, которые можно обрабатывать или предупреждать с помощью композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной) и соответствующих способов, описанных в данном документе.

Таблица 1. Грибковые вредители

Заболевание	Возбудитель
Ожог листьев пшеницы, вызываемый <i>Alternaria</i>	<i>Alternaria triticina</i>
Пятнистость листьев капустных культур, вызываемая <i>Alternaria</i>	<i>Alternaria japonica</i>
Американская ржавчина сои	<i>Phakopsora meibomia</i>
Ржавчина виноградовника	<i>Phakopsora ampelopsidis</i>
Анемон	<i>Ochropsora ariae</i>
Угловая пятнистость листьев цитруса	<i>Pseudocercospora angolensis</i>

Ржавчина малины полярной	<i>Phragmidium arcticum</i>
Аскохитоз кормовых бобов	<i>Didymella fabae</i>
Усыхание ясеня	<i>Chalara fraxinea</i>
Азиатская ржавчина горной розы	<i>Phragmidium butleri</i>
Азиатская ржавчина лещины	<i>Pucciniastrum coryli</i>
Азиатская ржавчина розы, вызываемая <i>Kuehneola</i>	<i>Kuehneola japonica</i>
Азиатская ржавчина горной малины	<i>Phragmidium assamense</i>
Азиатская ржавчина малины, вызываемая <i>Phragmidium</i>	<i>Phragmidium arisanense</i>
Азиатская ржавчина фисташек	<i>Pileolaria pistaciae</i>
Азиатская ржавчина розы	<i>Gerwasia rosae</i>
Азиатская ржавчина малины	<i>Hamaspora hashiokai</i>
Азиатская ржавчина сои	<i>Phakopsora pachyrhizi</i>
Азиатская головня сахарного тростника	<i>Sporisorium sacchari</i>
Азиатская бородавчатость коры, пузырчатый рак, кольцевая гниль, рак груши или яблони, вызываемый <i>Physalospora</i>	<i>Botryosphaeria berengeriana</i> f. sp. <i>pyricola</i>
Азиатская/европейская коричневая гниль розоцветных	<i>Monilinia fructigena</i>
Азиатская коричневая гниль плодов	<i>Monilia polystroma</i>
Азиатская ржавчина малины типа Barclay	<i>Phragmidium barclayi</i>
Черный ожог листьев сои	<i>Arkoola nigra</i>
Пузырчатый ожог чая	<i>Exobasidium vexans</i>
Синева древесины монгольского дуба	<i>Ophiostoma longicollum</i>
Ржавчина самшита или ржавчина древесины самшита	<i>Puccinia buxi</i>
Коричневая ржавчина сахарного тростника	<i>Puccinia melanocephala</i>
Ожог листьев вишни	<i>Apiognomonium erythrostoma</i>
Шоколадная пятнистость груш Ya Li	<i>Alternaria yaliinfiens</i>
Белая ржавчина хризантем	<i>Puccinia horiana</i>
Ржавчина листьев кофейного дерева	<i>Hemileia vastatrix</i>
Обыкновенная ржавчина малины азиатской	<i>Hamaspora acutissima</i>
Лиственница обыкновенная	<i>Melampsora capraearum</i>

Обыкновенная ржавчина картофеля и томата	<i>Puccinia pittieriana</i>
Усыхание сосны, вызываемое <i>Crumenulopsis</i>	<i>Crumenulopsis sororia</i>
Ржавчина лилейника	<i>Puccinia hemerocallidis</i>
Ложная мучнистая роса наперстянки	<i>Peronospora digitalis</i>
Ложная мучнистая роса бальзаминов (<i>Plasmopara</i>)	<i>Plasmopara obducens</i>
Баклажан	<i>Puccinia substriata</i> var. <i>substriata</i>
Спорынья проса африканского	<i>Claviceps fusiformis</i>
Рак лиственницы европейской	<i>Lachnellula willkommii</i>
Гнездоразрывная ржавчина азиатской малины	<i>Phragmidium pauciloculare</i>
Стеблевая головня пшеницы	<i>Urocystis agropyri</i>
Ржавчина гладиолусов	<i>Uromyces transversalis</i>
<i>Goplana dioscoreae</i>	<i>Goplana dioscoreae</i>
Ржавчина листьев винограда	<i>Phakopsora euvitis</i>
Серая ржавчина малины	<i>Phragmidium griseum</i>
Ржавчина гималайского рододендрона	<i>Chrysomyxa himalensis</i>
Ржавчина малины <i>Hiratsuka</i>	<i>Phragmidium hiratsukanum</i>
Лошадиный зуб или спорынья маиса	<i>Claviceps gigantea</i>
Ржавчина японской яблони	<i>Gymnosporangium yamadae</i>
Японский кипарисовик	<i>Gymnosporangium miyabei</i>
Японская спорынья сорго	<i>Claviceps sorghicola</i>
Ржавчина камчатской розы	<i>Phragmidium kamtschatkae</i>
Поздний вилт маиса	<i>Harpophora maydis</i>
Длинноспоровая азиатская ржавчина малины	<i>Hamaspora longissima</i>
Заболевание мальсекко цитруса	<i>Phoma tracheiphila</i>
Китайский тростник	<i>Puccinia miscanthi</i>
Ржавчина шелковицы	<i>Aecidium mori</i>
Ржавчина малины <i>Nambu</i>	<i>Phragmidium nambuenum</i>
Гниль шейки лука	<i>Ciborinia allii</i>
Ржавчина малины новозеландской	<i>Hamaspora australis</i>
Северная синяя гниль сосны	<i>Leptographium wingfieldii</i>
Северная сосна	<i>Chrysomyxa rhododendri</i>
Вилт дуба	<i>Ceratocystis fagacearum</i>
Оранжевая ржавчина сахарного тростника	<i>Puccinia kuehnii</i>

Peronospora radii	Peronospora radii
Ржавчина фисташек	Pileolaria terebinthi
Парша пуансеттии	Sphaceloma poinsettiae
Головня картофеля	Thecaphora solani
Puccinia gladioli, поражающая растения рода Gladiolus	Puccinia gladioli
Puccinia glyceriae (anam. Aecidium hydrangea)	Puccinia glyceriae
Puccinia mcleanii, поражающая растения рода Gladiolus	Puccinia mcleanii
Puccinia psidii	Puccinia psidii
Pucciniastrum actinidiae, поражающая Actinidia spp.	Pucciniastrum actinidiae
Красная ржавчина китайского тростника	Puccinia erythropus
Ржавчина ежевики кустистой	Phragmidium bulbosum
Ржавчина костяники	Phragmidium acuminatum
Ржавчина малины азиатской	Gerwasia rubi
Ржавчина малины южно-американской	Gerwasia imperialis
Ржавчина стебля шотландской сосны	Cronartium flaccidum
Ожог побегов самшита	Calonectria pseudonaviculata
Гриб Sirex wasp	Amylostereum areolatum
Паслен	Puccinia agrophila
Ржавчина малины южно-американской	Gerwasia mayorii
Головня дикого сахарного тростника, вызываемая грибами рода Sporisorium	Sporisorium pulverulentum
Ржавчина хвои елей	Chrysomyxa abietis
Трихокониоз, гниль всходов, пятнистость листьев риса	Alternaria padwickii
Внезапное опадение хвои елей (SNEED)	Setomelanomma holmii
Сахарная болезнь или азиатская спорынья сорго	Claviceps sorghi
Ржавчина батата	Endophyllum kaernbachii
Ржавчина тайваньской малины	Phragmidium formosanum
Смолистая пятнистость кукурузы	Phyllachora maydis
Ржавчина тика	Olivea tectonae

Thekopsora areolate	Thekopsora areolata
Болезнь, вызывающая опадение плодов баклажана	Diaporthe vexans
Тропическая американская ржавчина малины Kuehneola	Kuehneola loeseneriana
Тропическая американская ржавчина малины Mainsia	Mainsia rubi
Тропическая ржавчина сои	Aecidium glycines
Uromyces gladioli, поражающий растения рода Gladiolus	Uromyces gladioli
Uromyces nyikensis, поражающий растения рода Gladiolus	Uromyces nyikensis
Uromycladium tepperianum, поражающий Acacia spp.	Uromycladium tepperianum
Различные виды малины	Gerwasia variabilis
Ржавчина малины японской	Hamaspora sinica var. sinica
Ржавчина малины Yamada	Phragmidium yamadanum
Антракноз, пятнистость листьев и гниль стебля	Colletotrichum graminicola anthracnose (телеморфа: Glomerella graminicola), Glomerella tucumanensis (<i>анаморфа</i> : Glomerella falcatum)
Фузариоз початков и зерен, вызванный Aspergillus	Aspergillus flavus
Полосатость листьев и пятнистость влагалища листа	Rhizoctonia solani=Rhizoctonia microsclerotia (телеморфа: Thanatephorus cucumeris)
Ржавчина бобов	Uromyces appendiculatus
Почернение сосудистых пучков	Acremonium strictum=Cephalosporium acremonium
Гниль, вызывающая почернение зерен	Lasiodiplodia theobromae= Botryodiplodia theobromae
Borde blanco	Marasmiellus sp.
Буря пятнистость (черная пятнистость, гниль)	Physoderma maydis

стебля)	
Ложная мучнистая роса при сколекотриозе	<i>Sclerophthora raussiae</i> var. <i>zeae</i>
Гниль зерна, вызванная <i>Cephalosporium</i>	<i>Acremonium strictum</i> = <i>Cephalosporium acremonium</i>
Угольная гниль	<i>Macrophomina phaseolina</i>
Обычная ржавчина кукурузы	<i>Puccinia sorghi</i>
Южная ржавчина кукурузы	<i>Puccinia polysora</i>
Тропическая ржавчина кукурузы	<i>Physopella pallescens</i> , P. <i>zeae</i> = <i>Angiospora zeae</i>
Гниль початков, вызванная <i>Corticium</i>	<i>Thanatephorus cucumeris</i> = <i>Corticium sasakii</i>
Ржавчина хлопчатника	<i>Puccinia schedonnardi</i>
Юго-западная ржавчина хлопчатника	<i>Puccinia cacabata</i>
Тропическая ржавчина хлопчатника	<i>Phakopsora gossypii</i>
Акромания при ложной мучнистой росе	<i>Sclerophthora macrospora</i> = <i>S. macrospora</i>
Пятнистость листьев, вызванная <i>Curvularia</i>	<i>Curvularia clavata</i> , <i>C. eragrostidis</i> , = <i>C. maculans</i> (телеоморф: <i>Cochliobolus eragrostidis</i>), <i>Curvularia inaequalis</i> , <i>C. intermedia</i> (телеоморф: <i>Cochliobolus intermedius</i>), <i>Curvularia lunata</i> (телеоморф: <i>Cochliobolus lunatus</i>), <i>Curvularia pallescens</i> (телеоморф: <i>Cochliobolus pallescens</i>), <i>Curvularia senegalensis</i> , <i>C. tuberculata</i> (телеоморф: <i>Cochliobolus tuberculatus</i>)
Пятнистость листьев, вызванная <i>Didymella</i>	<i>Didymella exitialis</i>
Гниль початков и гниль стебля, вызванные <i>Diplodia</i>	<i>Diplodia frumenti</i> (телеоморф: <i>Botryosphaeria festucae</i>)
Гниль початков, гниль стебля, гниль семян и белая гниль всходов, вызванные <i>Diplodia</i>	<i>Diplodia maydis</i> = <i>Stenocarpella maydis</i>
Пятнистость листьев и полосатость листьев, вызванная <i>Diplodia</i>	<i>Stenocarpella macrospora</i> = <i>Diplodia macrospore</i>

Ложная мучнистая роса листьев винограда	Plasmopara viticola
Сухая гниль початков (гниль початка, зерна и стебля)	Nigrospora oryzae (телеоморф: Khuskia oryzae)
Гнили початков, незначительная	Aspergillus glaucus, A. niger, Aspergillus spp., Cunninghamella sp., Curvularia pallescens, Doratomyces stemonitis=Cephalotrichum stemonitis, Fusarium culmorum, Gonatobotrys simplex, Pithomyces maydicus, Rhizopus microsporus, R. stolonifer=R. nigricans, Scopulariopsis brumptii
epitea	Melampsora larici
Спорынья (лошадиный зуб, diente del caballo)	Claviceps gigantea (анаморф: Sphacelia sp.)
Глазковая пятнистость	Aureobasidium zeae=Kabatiella zeae
Гниль початков и стебля Diplodia	Fusarium subglutinans=F. moniliforme var. subglutinans
Гниль зерна, корней и стебля, гниль семян и белая гниль всходов, вызванная Fusarium	Fusarium moniliforme (телеоморф: Gibberella fujikuroi)
Гниль стебля, гниль корней всходов, вызванные Fusarium	Fusarium avenaceum (телеоморф: Gibberella avenacea)
Гниль початков и стебля, вызванная Gibberella	Gibberella zeae (анаморф: Fusarium graminearum)
Серая гниль початков	Botryosphaeria zeae=Physalospora zeae (анаморф: Macrophoma zeae)
Серая пятнистость листьев (Cercospora	Cercospora sorghi=C. sorghi var. maydis, пятнистость листьев C. zeae-maydis)
Зеленые початки при ложной мучнистой росе	Sclerospora graminicola
Гниль початков, вызванная Helminthosporium (раса 1)	Bipolaris zeicola=Helminthosporium carbonum
Гниль корней, вызванная Helminthosporium	Exserohilum pedicellatum=Helminthosporium pedicellatum (телеоморф:

	Setosphaeria)
Гниль початков, вызванная <i>Hormodendrum</i> (гниль, вызванная <i>Cladosporium</i>)	<i>Cladosporium</i> cladosporioides= <i>Hormodendrum</i> cladosporioides, <i>C. herbarum</i> (телеоморф: <i>Mycosphaerella tassiana</i>)
Пятнистость листьев, вызванная <i>Hyalothyridium</i>	<i>Hyalothyridium maydis</i>
Ложная мучнистая роса яванского кофе	<i>Peronosclerospora maydis</i> = <i>Sclerospora maydis</i>
Поздний вилт	<i>Cephalosporium maydis</i>
Ржавчина листьев (бурая)	<i>Puccinia recondita</i> (анаморф: <i>Aecidium clematitidis</i>)
Пятнистость листьев, незначительная	<i>Alternaria alternata</i> , <i>Ascochyta maydis</i> , <i>A. tritici</i> , <i>A. zeicola</i> , <i>Bipolaris victoriae</i> = <i>Helminthosporium victoriae</i> (телеоморф: <i>Cochliobolus victoriae</i>), <i>C. sativus</i> (анаморф: <i>Bipolaris sorokiniana</i> = <i>H. Exserohilum maydis</i> , <i>Leptothyrium zeae</i> , <i>Ophiosphaerella herpotricha</i> , <i>Setosphaeria prolata</i>) <i>Graphium penicillioides</i> , <i>Leptosphaeria prolatum</i> = <i>Drechslera prolata</i> (телеоморф: <i>sorokinianum</i> = <i>H. sativum</i>), <i>Epicoccum nigrum</i> , (анаморф: <i>Scolecosporella sp.</i>), <i>Paraphaeosphaeria michotii</i> , <i>Phoma sp.</i> , <i>Septoria zeae</i> , <i>S. zeicola</i> , <i>S. zeina</i>
Ржавчинные грибы	<i>Puccinia veronicae-longifoliae</i>
Ржавчина мускусной розы	<i>Phragmidium rosae-moschatae</i>
Ржавчина розы многоцветковой	<i>Phragmidium rosae-multiflorae</i>
Северный ожег листьев кукурузы	<i>Exserohilum turcicum</i> = <i>Helminthosporium turcicum</i> , <i>Setosphaeria turcica</i>
Северная пятнистость листьев кукурузы	<i>Cochliobolus carbonum</i>
Корончатая ржавчина овса	<i>Puccinia coronata</i>

Стеблевая ржавчина овса	<i>Puccinia graminis</i>
Ржавчина арахиса	<i>Puccinia arachidis</i>
Гниль початков, вызванная <i>Penicillium</i> (голубой глаз, голубая плесень)	<i>Penicillium</i> spp., <i>P. chrysogenum</i> , <i>P. expansum</i> , <i>P. oxalicum</i>
Ржавчина чернолоза-лиственницы	<i>Melampsora larici-pentandrae</i>
Гниль стебля и гниль корня, вызванная <i>Phaeocytostroma</i>	<i>Phaeocytostroma ambiguum</i> , <i>Phaeocytospora zeae</i>
Пятнистость листьев, вызванная <i>Phaeosphaeria</i>	<i>Phaeosphaeria maydis</i> , <i>Sphaerulina maydis</i>
Филиппинская ложная мучнистая роса	<i>Peronosclerospora philippinensis</i> = <i>Sclerospora philippinensis</i>
Гниль початков, вызванная <i>Physalospora</i>	<i>Botryosphaeria Botryosphaeria festucae</i> = <i>Physalospora zeicola</i> , (анаморф: <i>Diplodia frumenti</i>)
Обычная ржавчина картофеля	<i>Puccinia pittieriana</i>
Деформирующая ржавчина картофеля	<i>Aecidium cantensis</i>
Зерновые и травы Настоящая мучнистая роса	<i>Erysiphe graminis</i>
Настоящая мучнистая роса розы	<i>Sphaerotheca pannosa</i>
Настоящая мучнистая роса пшеницы	<i>Blumeria graminis</i> f. sp. <i>tritici</i> ,
Настоящая мучнистая роса ячменя	<i>Blumeria graminis</i> f. sp. <i>hordei</i>
Настоящая мучнистая роса винограда	<i>Microsphaera diffusa</i>
Настоящая мучнистая роса бобовых	<i>Erysiphe necator</i> (или <i>Uncinula necator</i>)
Настоящая мучнистая роса винограда	<i>Leveillula taurica</i> , или <i>Oidiopsis taurica</i>
Настоящая мучнистая роса лука	<i>Podosphaera leucotricha</i>
Настоящая мучнистая роса яблони	<i>Podosphaera xanthii</i> , <i>Erysiphe cichoracearum</i> , <i>Podosphaera fusca</i> , <i>Leveillula taurica</i>
Настоящая мучнистая роса тыквенных	<i>Microsphaera syringae</i>
Настоящая мучнистая роса лилейных	<i>Podosphaera aphanis</i> , <i>Geum rivale</i>
Настоящая мучнистая роса клубники	<i>Erysiphe berberidis</i>
Настоящая мучнистая роса боярышника	<i>Podosphaera oxyacanthae</i>
Настоящая мучнистая роса крыжовника	<i>Sphaerotheca mors-uvae</i>

Пурпурное листовое влагалище	<i>Полупаразитические бактерии и грибы</i>
Гниль стебля и <i>гниль корня</i> , вызванная Pyrenochaeta	Phoma terrestris, Pyrenochaeta terrestris
Гниль корня, вызванная Pythium	Pythium spp., P. arrhenomanes, P. graminicola
Гниль стебля, вызванная Pythium	Pythium aphanidermatum=P. butleri L.
Болезнь красных зерен (плесень початков кукурузы, гниль листьев и семян)	Epicoccum nigrum
Початок кукурузы, пораженный Rhizoctonia	Rhizoctonia zeae (телеоморф: Waitea circinata)
Гниль корней и <i>гниль стебля</i> , вызванная Rhizoctonia	Rhizoctonia solani, Rhizoctonia zeae
Виды гнили корней, незначительная	Alternaria alternata, Cercospora sorghi, Dictochaeta fertilis, Fusarium acuminatum (телеоморф: Gibberella acuminata), F. equiseti (телеоморф: G. intricans), F. oxysporum, F. pallidoroseum, F. poae, F. roseum, F. cyanogena, (анаморф: F. sulphureum), Microdochium bolleyi, Mucor sp., Periconia circinata, Phytophthora cactorum, P. drechsleri, P. nicotianae var. parasitica, Rhizopus arrhizus
Пятнистость листьев, вызванная Rostratum (болезнь листьев, <i>гниль початков и стебля</i>)	Setosphaeria rostrata, Helminthosporium (анаморф: Exserohilum rostratum= Helminthosporium rostratum)
rugosae	Phragmidium rosae
Ржавчина, обычная кукуруза	Puccinia sorghi
Ржавчина, южная кукуруза	Puccinia polysora
Ржавчина, тропическая кукуруза	Physopella pallescens, P. zeae= Angiospora zeae

sativae	Balansia oryzae
Гниль початков, вызванная Sclerotium (южный ожег)	Sclerotium rolfsii (телеоморф: Athelia rolfsii)
Гниль семян-ожег сеянцев	Bipolaris sorokiniana, B. zeicola=Helminthosporium carbonum, Diplodia maydis, Exserohilum pedicellatum, Exserohilum turcicum=Helminthosporium turcicum, Fusarium avenaceum, F. culmorum, F. moniliforme, Gibberella zeae (анаморф: F. graminearum), Macrophomina phaseolina, Penicillium spp., Phomopsis sp., Pythium spp., Rhizoctonia solani, R. zeae, Sclerotium rolfsii, Spicaria sp.
Пятнистость листьев, вызванная Selenophoma	Selenophoma sp.
Гниль влагалища	Gaeumannomyces graminis
Гниль шелухи	Myrothecium gramineum
sieboldii	Hamaspora rubi
Плесень силоса	Monascus purpureus, M. ruber
Головня, обычная	Ustilago zeae=U. maydis
Головня, ложная	Ustilaginoidea virens
Головня, головок	Sphacelotheca reiliana=Sporisorium holci-sorgho
Ложная мучнистая роса Sorghum	Peronosclerospora sorgho=Sclerospora sorgho
Южная пятнистость листьев и гниль стебля кукурузы	Cochliobolus heterostrophus (анаморф: Bipolaris maydis=Helminthosporium maydis)
Южная пятнистость листьев	Stenocarpella macrospora=Diplodia macrospora
Ржавчина сои	Phakopsora pachyrhizi
Ложная мучнистая роса Spontaneum	Peronosclerospora spontanea=Sclerospora spontanea

Гниль стеблей, незначительная	Cercospora sorghi, Fusarium episphaeria, F. merismoides, F. oxysporum, F. poae, F. roseum, F. solani (телеоморф: Nectria haematococca), F. tricinctum, Mariannaea elegans, Mucor sp., Rhopoglyphus zeae, Spicaria sp.
Ржавчина стебля	Puccinia graminis=P. graminis f. sp. secalis
Виды белой гнили	Aspergillus spp., Penicillium spp. и другие грибы
Обычная ржавчина сахарного тростника	Puccinia melanocephala=P. eriantha
Ложная мучнистая роса сахарного тростника	Peronosclerospora sacchari=Sclerospora sacchari
Смолистая пятнистость	Phyllachora maydis
thunbergii	Phragmidium rubi
Гниль початков и гниль корня, вызванная Trichoderma	Trichoderma viride=T. lignorum (телеоморф: Нурочреа sp.)
Ржавчина листьев пшеницы (бурая)	Puccinia triticina=P. Recondita f. Sp. tritici=P. tritici-duri
Ржавчина стебля пшеницы (черная)	Puccinia graminis=P. graminis f. sp. tritici
Ржавчина стебля пшеницы (желтая)	Puccinia striiformis (анаморф: P. uredoglumarum)
Белая гниль початков, гниль корней и стебля	Stenocarpella maydis=Diplodia zeae
Желтый ожег листьев	Ascochyta ischaemi, Phyllosticta maydis (телеоморф: Mycosphaerella zeae-maydis)
Зональная пятнистость листьев	Gloeocercospora sorghi

В. Бактерии

Композиции для контроля вредителей (например, биопестицидные или биорепеллентные) и соответствующие способы могут быть пригодны для снижения приспособленности бактерии, например для предупреждения или лечения бактериальной инфекции у растения. Предусмотрены способы доставки композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной) по отношению к бактерии

путем приведения бактерий в контакт с композицией для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной). В качестве дополнения или в качестве альтернативы, способы предусматривают доставку биопестицида по отношению к растению, имеющему риск заражения бактериальной инфекцией или имеющему ее, путем приведения растения в контакт с композицией для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной).

Композиции для контроля вредителей (например, биопестицидные или биорепеллентные) и соответствующие способы являются подходящими для доставки по отношению к бактериям или растению, зараженному ими, в том числе любыми бактериями, дополнительно описанными ниже. Например, бактерии могут представлять собой бактерии, принадлежащие типу *Actinobacteria* или *Proteobacteria*, такие как бактерии в семействах *Burkholderiaceae*, *Xanthomonadaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Microbacteriaceae* и *Rhizobiaceae*.

В некоторых случаях бактерия представляет собой *Acidovorax avenae* подвиды, в том числе, например, *Acidovorax avenae* подвид *avenae* (= *Pseudomonas avenae* подвид *avenae*), *Acidovorax avenae* подвид *cattleyae* (= *Pseudomonas cattleyae*) или *Acidovorax avenae* подвид *citrulli* (= *Pseudomonas pseudoalcaligenes* подвид *citrulli*, *Pseudomonas avenae* подвид *citrulli*)).

В некоторых случаях бактерия представляет собой *Burkholderia* spp., в том числе, например, *Burkholderia andropogonis* (= *Pseudomonas andropogonis*, *Pseudomonas woodsii*), *Burkholderia caryophylli* (= *Pseudomonas caryophylli*), *Burkholderia cepacia* (= *Pseudomonas cepacia*), *Burkholderia gladioli* (= *Pseudomonas gladioli*), *Burkholderia gladioli* pv. *agaricicola* (= *Pseudomonas gladioli* pv. *agaricicola*), *Burkholderia gladioli* pv. *alliicola* (т. е., *Pseudomonas gladioli* pv. *alliicola*), *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli* (т. е., *Pseudomonas gladioli*, *Pseudomonas gladioli* pv. *gladioli*), *Burkholderia glumae* (т. е., *Pseudomonas glumae*), *Burkholderia plantarii* (т. е., *Pseudomonas plantarii*), *Burkholderia solanacearum* (т. е., *Ralstonia solanacearum*), или *Ralstonia* spp.

В некоторых случаях бактерия представляет собой *Liberibacter* spp., в том числе *Candidatus Liberibacter spec.*, в том числе, например, *Candidatus Liberibacter asiaticus*, *Liberibacter africanus* (Laf), *Liberibacter americanus* (Lam), *Liberibacter asiaticus* (Las), *Liberibacter europaeus* (Leu), *Liberibacter psyllae*, или *Liberibacter solanacearum* (Lso).

В некоторых случаях бактерия представляет собой *Corynebacterium* spp., в том числе, например, *Corynebacterium fascians*, *Corynebacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, *Corynebacterium michiganensis*, *Corynebacterium michiganense* pv. *tritici*, *Corynebacterium michiganense* pv. *nebraskense*, или *Corynebacterium sepedonicum*.

В некоторых случаях бактерия представляет собой *Erwinia* spp. в том числе, например, *Erwinia amylovora*, *Erwinia ananas*, *Erwinia carotovora* (т. е., *Pectobacterium carotovorum*), *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, *Erwinia chrysanthemi*, *Erwinia chrysanthemi* pv. *zeae*, *Erwinia dissolvens*, *Erwinia herbicola*, *Erwinia rhapontic*, *Erwinia stewartii*, *Erwinia tracheiphila*, или *Erwinia uredovora*.

В некоторых случаях бактерия представляет собой *Pseudomonas syringae* подвид, в том числе, например, *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Psa), *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens*, *Pseudomonas syringae* pv. *coronafaciens*, *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea*, *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*, *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* *Pseudomonas syringae* pv. *papulans*, *Pseudomonas syringae* pv. *striaefaciens*, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, или *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*.

В некоторых случаях бактерия представляет собой *Pseudomonas aeruginosa*.

В некоторых случаях бактерия представляет собой *Streptomyces* spp., в том числе, например, *Streptomyces acidiscabies*, *Streptomyces albidoflavus*, *Streptomyces candidus* (т. е., *Actinomyces candidus*), *Streptomyces caviscabies*, *Streptomyces collinus*, *Streptomyces europaeiscabiei*, *Streptomyces intermedius*, *Streptomyces ipomoeae*, *Streptomyces luridiscabiei*, *Streptomyces niveiscabiei*, *Streptomyces puniscabiei*, *Streptomyces reticuliscabiei*, *Streptomyces scabiei*, *Streptomyces scabies*, *Streptomyces setonii*, *Streptomyces steliiscabiei*, *Streptomyces turgidiscabies*, или *Streptomyces wedmorensis*.

В некоторых случаях бактерия представляет собой *Xanthomonas axonopodis* подвид, в том числе, например, *Xanthomonas axonopodis* pv. *alfalfae* (= *Xanthomonas alfalfae*), *Xanthomonas axonopodis* pv. *aurantifolii* (= *Xanthomonas fuscans* subsp. *aurantifolii*), *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* (= *Xanthomonas campestris* pv. *allii*), *Xanthomonas axonopodis* pv. *axonopodis*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *bauhiniae* (= *Xanthomonas campestris* pv. *bauhiniae*), *Xanthomonas axonopodis* pv. *begoniae* (= *Xanthomonas campestris* pv. *begoniae*), *Xanthomonas axonopodis* pv. *betlicola* (= *Xanthomonas campestris* pv. *betlicola*), *Xanthomonas axonopodis* pv. *biophyti* (= *Xanthomonas campestris* pv. *biophyti*), *Xanthomonas axonopodis* pv. *cajani* (= *Xanthomonas campestris* pv. *cajani*), *Xanthomonas axonopodis* pv. *cassavae* (= *Xanthomonas cassavae*, *Xanthomonas campestris* pv. *cassavae*), *Xanthomonas axonopodis* pv. *cassiae* (= *Xanthomonas campestris* pv. *cassiae*), *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (= *Xanthomonas citri*), *Xanthomonas axonopodis* pv. *citrumelo* (= *Xanthomonas alfalfae* subsp. *citrumelonis*), *Xanthomonas axonopodis* pv. *clitoriae* (= *Xanthomonas campestris* pv. *clitoriae*), *Xanthomonas axonopodis* pv. *coracanae* (= *Xanthomonas campestris* pv. *coracanae*), *Xanthomonas axonopodis* pv. *cyamopsidis* (= *Xanthomonas campestris* pv. *cyamopsidis*), *Xanthomonas axonopodis* pv. *desmodii* (= *Xanthomonas campestris* pv. *desmodii*), *Xanthomonas axonopodis* pv. *desmodiigangetici* (= *Xanthomonas campestris* pv. *desmodiigangetici*), *Xanthomonas axonopodis* pv. *desmodiilaxiflori* (= *Xanthomonas campestris* pv. *desmodiilaxiflori*), *Xanthomonas axonopodis* pv. *desmodiitundifolii* (= *Xanthomonas campestris* pv. *desmodiitundifolii*), *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* (= *Xanthomonas campestris* pv. *dieffenbachiae*), *Xanthomonas axonopodis* pv. *erythrinae* (= *Xanthomonas campestris* pv. *erythrinae*), *Xanthomonas axonopodis* pv. *fascicularis* (= *Xanthomonas campestris* pv. *fasciculari*), *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* (= *Xanthomonas campestris* pv. *glycines*), *Xanthomonas axonopodis* pv. *khayae* (= *Xanthomonas campestris* pv. *khayae*), *Xanthomonas axonopodis* pv. *lespedezae* (= *Xanthomonas campestris* pv. *lespedezae*), *Xanthomonas axonopodis* pv. *maculifoliigardeniae* (= *Xanthomonas campestris* pv.

maculifoliigardeniae), *Xanthomonas axonopodis* pv. malvacearum (= *Xanthomonas citri* subsp. malvacearum), *Xanthomonas axonopodis* pv. manihotis (= *Xanthomonas campestris* pv. manihotis), *Xanthomonas axonopodis* pv. martyniicola (= *Xanthomonas campestris* pv. martyniicola), *Xanthomonas axonopodis* pv. melhusii (= *Xanthomonas campestris* pv. melhusii), *Xanthomonas axonopodis* pv. nakataecorchori (= *Xanthomonas campestris* pv. nakataecorchori), *Xanthomonas axonopodis* pv. passiflorae (= *Xanthomonas campestris* pv. passiflorae), *Xanthomonas axonopodis* pv. patelii (= *Xanthomonas campestris* pv. patelii), *Xanthomonas axonopodis* pv. pedalii (= *Xanthomonas campestris* pv. pedalii), *Xanthomonas axonopodis* pv. phaseoli (= *Xanthomonas campestris* pv. phaseoli, *Xanthomonas phaseoli*), *Xanthomonas axonopodis* pv. phaseoli var. fuscans (= *Xanthomonas fuscans*), *Xanthomonas axonopodis* pv. phyllanthi (= *Xanthomonas campestris* pv. phyllanthi), *Xanthomonas axonopodis* pv. physalidicola (= *Xanthomonas campestris* pv. physalidicola), *Xanthomonas axonopodis* pv. poinsettiicola (= *Xanthomonas campestris* pv. poinsettiicola), *Xanthomonas axonopodis* pv. punicae (= *Xanthomonas campestris* pv. punicae), *Xanthomonas axonopodis* pv. rhynchosiae (= *Xanthomonas campestris* pv. rhynchosiae), *Xanthomonas axonopodis* pv. ricini (= *Xanthomonas campestris* pv. ricini), *Xanthomonas axonopodis* pv. sesbaniae (= *Xanthomonas campestris* pv. sesbaniae), *Xanthomonas axonopodis* pv. tamarindi (= *Xanthomonas campestris* pv. tamarindi), *Xanthomonas axonopodis* pv. vasculorum (= *Xanthomonas campestris* pv. vasculorum), *Xanthomonas axonopodis* pv. vesicatoria (= *Xanthomonas campestris* pv. vesicatoria, *Xanthomonas vesicatoria*), *Xanthomonas axonopodis* pv. vignaeradiatae (= *Xanthomonas campestris* pv. vignaeradiatae), *Xanthomonas axonopodis* pv. vignicola (= *Xanthomonas campestris* pv. vignicola), или *Xanthomonas axonopodis* pv. vitians (= *Xanthomonas campestris* pv. vitians).

В некоторых случаях бактерия представляет собой *Xanthomonas campestris* pv. musacearum, *Xanthomonas campestris* pv. pruni (= *Xanthomonas arboricola* pv. pruni) или *Xanthomonas fragariae*.

В некоторых случаях бактерия представляет собой *Xanthomonas translucens* подвид (= *Xanthomonas campestris* pv. hordei), в том числе, например, *Xanthomonas translucens* pv. arrhenatheri (= *Xanthomonas campestris* pv. arrhenatheri), *Xanthomonas translucens* pv. cerealis (= *Xanthomonas campestris* pv. cerealis), *Xanthomonas translucens* pv. graminis (= *Xanthomonas campestris* pv. graminis), *Xanthomonas translucens* pv. phlei (= *Xanthomonas campestris* pv. phlei), *Xanthomonas translucens* pv. phleipratensis (= *Xanthomonas campestris* pv. phleipratensis), *Xanthomonas translucens* pv. poae (= *Xanthomonas campestris* pv. poae), *Xanthomonas translucens* pv. secalis (= *Xanthomonas campestris* pv. secalis), *Xanthomonas translucens* pv. translucens (= *Xanthomonas campestris* pv. translucens) или *Xanthomonas translucens* pv. undulosa (= *Xanthomonas campestris* pv. undulosa).

В некоторых случаях бактерия представляет собой *Xanthomonas oryzae* подвид, *Xanthomonas oryzae* pv. oryzae (= *Xanthomonas campestris* pv. oryzae) или *Xanthomonas oryzae* pv. oryzicola (= *Xanthomonas campestris* pv. oryzicola).

В некоторых случаях бактерия представляет собой *Xylella fastidiosa* из семейства

Xanthomonadaceae.

В таблице 2 представлены дополнительные примеры бактерий и ассоциированных с ними заболеваний, которые можно лечить или предупреждать с помощью композиции для контроля вредителей (например, биопестицидных или биорепеллентных) и соответствующих способов, описанных в данном документе.

Таблица 2. Бактерии-вредители

Заболевание	Возбудитель
Бактериальный ожог листьев и гниль стебля	<i>Pseudomonas avenae</i> subsp. <i>avenae</i>
Бактериальная пятнистость листьев	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>holcicola</i>
Бактериальная гниль стебля	<i>Enterobacter dissolvens</i> = <i>Erwinia dissolvens</i>
Бактериальная гниль стебля и верхушки	<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i> , <i>Erwinia chrysanthemi</i> pv. <i>Zea</i>
Бактериальная полосатость	<i>Pseudomonas andropogonis</i>
Шоколадная пятнистость	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>Coronafaciens</i>
Бактериальная увядание (веснушчатость листьев и вилт)	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>nebraskensis</i> = <i>Cornebacterium michiganense</i> pv. <i>Nebraskense</i>
Пятнистость <i>Holcus</i>	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>Syringae</i>
Пурпурное листовое влагалище	Полупаразитические бактерии
Гниль семян-ожог сеянцев	<i>Bacillus subtilis</i>
Бактериоз початков кукурузы (бактериальный вилт)	<i>Pantoea stewartii</i> = <i>Erwinia stewartii</i>
Остановка роста зерен (остановка роста Mesa Central или Rio Grande)	<i>Achapparramiento</i> , остановка роста, <i>Spiroplasma kunkelii</i>
Мягкая гниль	<i>Dickeya dianthicola</i>
Мягкая гниль	<i>Dickeya solani</i>
Красная бактериальная гниль	<i>Erwinia amylovora</i>
Мягкая гниль	<i>P. atrosepticum</i>
Мягкая гниль	<i>Pectobacterium carotovorum</i> ssp. <i>carotovorum</i>
Мягкая гниль	<i>Pectobacterium wasabiae</i>
Бактериальный ожог	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>Porri</i> и pv. <i>Tomato</i>
Бурая бородавчатость	<i>Pseudomonas tolaasii</i>
Бактериальный вилт	<i>Ralstonia solanacearum</i>
Бактериальный вилт	<i>Ralstonia solanacearum</i>

Обыкновенная парша	<i>Streptomyces scabies</i>
Обыкновенная парша	<i>Streptomyces scabies</i>
Ожег лука, вызванный <i>Xanthomonas</i>	<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>allii</i>
Азиатский рак цитруса	<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>citri</i>
Бактериальная пятнистость цитруса	<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>citrumelo</i>
Бактериальная пятнистость	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>vesicatoria</i>
Пайерсова болезнь	<i>Xylella fastidiosa</i>

С. Насекомые

Композиции для контроля вредителей (например, биопестицидные или биорепеллентные) и соответствующие способы могут быть пригодны для снижения приспособленности насекомого, например для предупреждения или лечения заражения насекомыми у растения. Термин "насекомое" включает любой организм, принадлежащий к типу *Arthropoda* и к классу *Insecta* или классу *Arachnida*, на любой стадии развития, т. е. неполовозрелых и взрослых насекомых. Предусмотрены способы доставки композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной) о отношению к насекомому путем приведения насекомого в контакт с композицией для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной). В качестве дополнения или в качестве альтернативы, способы предусматривают доставку биопестицида по отношению к растению, имеющему риск заражения инфекцией, вызываемой насекомыми, или имеющему ее, путем приведения растения в контакт с композицией для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной).

Композиции для контроля вредителей (например, биопестицидные или биорепеллентные) и соответствующие способы являются подходящими для предупреждения или лечения заражения, вызываемого насекомым, или растения, зараженного им, в том числе насекомыми, принадлежащими к следующим отрядам: *Acari*, *Araneae*, *Anoplura*, *Coleoptera*, *Collembola*, *Dermaptera*, *Dictyoptera*, *Diplura*, *Diptera* (например, пестрокрылая *Drosophila*), *Embiodera*, *Ephemeroptera*, *Grylloblatodea*, *Hemiptera* (например, тли, тепличная белокрылка), *Homoptera*, *Hymenoptera*, *Isoptera*, *Lepidoptera*, *Mallophaga*, *Mecoptera*, *Neuroptera*, *Odonata*, *Orthoptera*, *Phasmida*, *Plecoptera*, *Protura*, *Psocoptera*, *Siphonaptera*, *Siphunculata*, *Thysanura*, *Strepsiptera*, *Thysanoptera*, *Trichoptera* или *Zoraptera*.

В некоторых случаях насекомое относится к классу *Arachnida*, например *Acarus* spp., *Aceria sheldoni*, *Aculops* spp., *Aculus* spp., *Amblyomma* spp., *Amphitetranychus viennensis*, *Argas* spp., *Boophilus* spp., *Brevipalpus* spp., *Bryobia graminum*, *Bryobia praetiosa*, *Centruroides* spp., *Chorioptes* spp., *Dermanyssus gallinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, *Dermacentor* spp., *Eotetranychus* spp., *Epitrimerus pyri*, *Eutetranychus* spp., *Eriophyes* spp., *Glycyphagus domesticus*, *Halotydeus destructor*, *Hemitarsonemus* spp., *Hyalomma* spp., *Ixodes* spp., *Latrodectus* spp., *Loxosceles* spp., *Metatetranychus* spp., *Neutrombicula autumnalis*, *Nuphessa* spp., *Oligonychus* spp.,

Ornithodoros spp., *Ornithonyssus* spp., *Panonychus* spp., *Phyllocoptruta oleivora*, *Polyphagotarsonemus latus*, *Psoroptes* spp., *Rhipicephalus* spp., *Rhizoglyphus* spp., *Sarcoptes* spp., *Scorpio maurus*, *Steneotarsonemus* spp., *Steneotarsonemus spinki*, *Tarsonemus* spp., *Tetranychus* spp., *Trombicula alfreddugesi*, *Vaejovis* spp., или *Vasates lycopersici*.

В некоторых случаях насекомое относится к классу *Chilopoda*, например *Geophilus* spp. или *Scutigera* spp.

В некоторых случаях насекомое относится к отряду *Collembola*, например *Onychiurus armatus*.

В некоторых случаях насекомое относится к классу *Diplopoda*, например *Blaniulus guttulatus*;

к классу *Insecta*, например к отряду *Blattodea*, например *Blattella asahinai*, *Blattella germanica*, *Blatta orientalis*, *Leucophaea maderae*, *Panchlora* spp., *Parcoblatta* spp., *Periplaneta* spp., или *Supella longipalpa*.

В некоторых случаях насекомое относится к отряду *Coleoptera*, например *Acalymma vittatum*, *Acanthoscelides obtectus*, *Adoretus* spp., *Agelastica alni*, *Agriotes* spp., *Alphitobius diaperinus*, *Amphimallon solstitialis*, *Anobium punctatum*, *Anoplophora* spp., *Anthonomus* spp., *Anthrenus* spp., *Apion* spp., *Apogonia* spp., *Atomaria* spp., *Attagenus* spp., *Bruchidius obtectus*, *Bruchus* spp., *Cassida* spp., *Cerotoma trifurcata*, *Ceutorrhynchus* spp., *Chaetocnema* spp., *Cleonus mendicus*, *Conoderus* spp., *Cosmopolites* spp., *Costelytra zealandica*, *Ctenicera* spp., *Curculio* spp., *Cryptolestes ferrugineus*, *Cryptorhynchus lapathi*, *Cylindrocopturus* spp., *Dermestes* spp., *Diabrotica* spp. (например, corn rootworm), *Dichocrocis* spp., *Dicladispa armigera*, *Diloboderus* spp., *Epilachna* spp., *Epitrix* spp., *Faustinus* spp., *Gibbium psylloides*, *Gnathocerus cornutus*, *Hellula undalis*, *Heteronychus arator*, *Heteronyx* spp., *Hylamorpha elegans*, *Hylotrupes bajulus*, *Hypera postica*, *Hypomeces squamosus*, *Hypothenemus* spp., *Lachnosterna consanguinea*, *Lasioderma serricorne*, *Latheticus oryzae*, *Lathridius* spp., *Lema* spp., *Leptinotarsa decemlineata*, *Leucoptera* spp., *Lissorhoptrus oryzophilus*, *Lixus* spp., *Luperodes* spp., *Lyctus* spp., *Megascelis* spp., *Melanotus* spp., *Meligethes aeneus*, *Melolontha* spp., *Migdolus* spp., *Monochamus* spp., *Naupactus xanthographus*, *Necrobia* spp., *Niptus hololeucus*, *Oryctes rhinoceros*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Oryzaphagus oryzae*, *Otiorrhynchus* spp., *Oxycetonia jucunda*, *Phaedon cochleariae*, *Phyllophaga* spp., *Phyllophaga helleri*, *Phyllotreta* spp., *Popillia japonica*, *Premnotrypes* spp., *Prostephanus truncatus*, *Psylliodes* spp., *Ptinus* spp., *Rhizobius ventralis*, *Rhizopertha dominica*, *Sitophilus* spp., *Sitophilus oryzae*, *Sphenophorus* spp., *Stegobium paniceum*, *Sternechus* spp., *Symphyletes* spp., *Tanymecus* spp., *Tenebrio molitor*, *Tenebrioides mauretanicus*, *Tribolium* spp., *Trogoderma* spp., *Tychius* spp., *Xylotrechus* spp., или *Zabrus* spp.

В некоторых случаях насекомое относится к отряду *Diptera*, например *Aedes* spp., *Agromyza* spp., *Anastrepha* spp., *Anopheles* spp., *Asphondylia* spp., *Bactrocera* spp., *Bibio hortulanus*, *Calliphora erythrocephala*, *Calliphora vicina*, *Ceratitis capitata*, *Chironomus* spp., *Chrysomyia* spp., *Chrysops* spp., *Chrysozona pluvialis*, *Cochliomyia* spp., *Contarinia* spp., *Cordylobia anthropophaga*, *Cricotopus sylvestris*, *Culex* spp., *Culicoides* spp., *Culiseta* spp.,

Cuterebra spp., Dacus oleae, Dasyneura spp., Delia spp., Dermatobia hominis, Drosophila spp., Echinocnemus spp., Fannia spp., Gasterophilus spp., Glossina spp., Haematopota spp., Hydrellia spp., Hydrellia griseola, Hylemya spp., Hippobosca spp., Hupoderma spp., Liriomyza spp., Lucilia spp., Lutzomyia spp., Mansonia spp., Musca spp. (например, Musca domestica), Oestrus spp., Oscinella frit, Paratanytarsus spp., Paralauterborniella subcincta, Pegomyia spp., Phlebotomus spp., Phorbia spp., Phormia spp., Piophilina casei, Prodiplosis spp., Psila rosae, Rhagoletis spp., Sarcophaga spp., Simulium spp., Stomoxys spp., Tabanus spp., Tetanops spp., или Tipula spp.

В некоторых случаях насекомое относится к отряду Heteroptera, например Anasa tristis, Antestiopsis spp., Boisea spp., Blissus spp., Calocoris spp., Campylomma livida, Cavalerius spp., Cimex spp., Collaria spp., Creontiades dilutus, Dasynus piperis, Dichelops furcatus, Diconocoris hewetti, Dysdercus spp., Euschistus spp., Eurygaster spp., Heliopeltis spp., Horcias nobilellus, Leptocorisa spp., Leptocorisa varicornis, Leptoglossus phyllopus, Lygus spp., Macropes excavatus, Miridae, Monalonion atratum, Nezara spp., Oebalus spp., Pentatomidae, Piesma quadrata, Piezodorus spp., Psallus spp., Pseudacysta perseae, Rhodnius spp., Sahlbergella singularis, Scaptocoris castanea, Scotinophora spp., Stephanitis nashi, Tibraca spp., или Triatoma spp.

В некоторых случаях насекомое относится к отряду Homiptera, например Acizzia acaciaebaileyanae, Acizzia dodonaeae, Acizzia uncatoides, Acrida turrata, Acyrthosipon spp., Acrogonia spp., Aeneolamia spp., Agonosцена spp., Aleyrodes proletella, Aleurolobus barodensis, Aleurothrixus floccosus, Allocaridara malayensis, Amrasca spp., Anuraphis cardui, Aonidiella spp., Aphanostigma pini, Aphis spp. (например, Aphis gossypii), Arboridia apicalis, Arytainilla spp., Aspidiella spp., Aspidiotus spp., Atanus spp., Aulacorthum solani, Bemisia tabaci, Blastopsylla occidentalis, Boreioglycaspis melaleucae, Brachycaudus helichrysi, Brachycolus spp., Brevicoryne brassicae, Cacopsylla spp., Calligypona marginata, Carnecephala fulgida, Ceratovacuna lanigera, Cercopidae, Ceroplastes spp., Chaetosiphon fragaefolii, Chionaspis tegalensis, Chlorita onukii, Chondracris rosea, Chromaphis juglandicola, Chrysomphalus ficus, Cicadulina mbila, Cocomytilus halli, Coccus spp., Cryptomyzus ribis, Cryptoneossa spp., Ctenarytaina spp., Dalbulus spp., Dialeurodes citri, Diaphorina citri, Diaspis spp., Drosicha spp., Dysaphis spp., Dysmicoccus spp., Empoasca spp., Eriosoma spp., Erythroneura spp., Eucalyptolyma spp., Euphyllura spp., Euscelis bilobatus, Ferrisia spp., Geococcus coffeae, Glycaspis spp., Heteropsylla cubana, Heteropsylla spinulosa, Homalodisca coagulata, Homalodisca vitripennis, Hyalopterus arundinis, Icerya spp., Idiocerus spp., Idioscopus spp., Laodelphax striatellus, Lecanium spp., Lepidosaphes spp., Lipaphis erysimi, Macrosiphum spp., Macrosteles facifrons, Mahanarva spp., Melanaphis sacchari, Metcalfiella spp., Metopolophium dirhodum, Monellia costalis, Monelliopsis pecanis, Myzus spp., Nasonovia ribisnigri, Nephrotettix spp., Nettigoniclla spectra, Nilaparvata lugens, Oncometopia spp., Orthezia praelonga, Oxya chinensis, Pachyppsyla spp., Parabemisia myricae, Paratrioza spp., Parlatoria spp., Pemphigus spp., Pentatomidae spp. (например, Halyomorpha halys), Peregrinus maidis, Phenacoccus spp., Phloeomyzus passerinii, Phorodon humuli,

Phylloxera spp., *Pinnaspis aspidistrae*, *Planococcus* spp., *Prosopidopsylla flava*, *Protopulvinaria pyriformis*, *Pseudaulacaspis pentagona*, *Pseudococcus* spp., *Psyllopsis* spp., *Psylla* spp., *Pteromalus* spp., *Pyrilla* spp., *Quadraspidotus* spp., *Quesada gigas*, *Rastrococcus* spp., *Rhopalosiphum* spp., *Saissetia* spp., *Scaphoideus titanus*, *Schizaphis graminum*, *Selenaspidus articulatus*, *Sogata* spp., *Sogatella furcifera*, *Sogatodes* spp., *Stictocephala festina*, *Siphoninus phillyreae*, *Tenalaphara malayensis*, *Tetragonocephala* spp., *Tinocallis caryaefoliae*, *Tomaspis* spp., *Toxoptera* spp., *Trialeurodes vaporariorum*, *Trioza* spp., *Typhlocyba* spp., *Unaspis* spp., *Viteus vitifolii*, *Zygina* spp.;

к отряду *Hymenoptera*, например *Acromyrmex* spp., *Athalia* spp., *Atta* spp., *Diprion* spp., *Hoplocampa* spp., *Lasius* spp., *Monomorium pharaonis*, *Sirex* spp., *Solenopsis invicta*, *Tapinoma* spp., *Urocerus* spp., *Vespa* spp., или *Xeris* spp.

В некоторых случаях насекомое относится к отряду *Isopoda*, например *Armadillidium vulgare*, *Oniscus asellus*, или *Porcellio scaber*.

В некоторых случаях насекомое относится к отряду *Isoptera*, например *Coptotermes* spp., *Cornitermes cumulans*, *Cryptotermes* spp., *Incisitermes* spp., *Microtermes obesi*, *Odontotermes* spp., или *Reticulitermes* spp.

В некоторых случаях насекомое относится к отряду *Lepidoptera*, например *Achroia grisella*, *Acronicta major*, *Adoxophyes* spp., *Aedia leucomelas*, *Agrotis* spp., *Alabama* spp., *Amyelois transitella*, *Anarsia* spp., *Anticarsia* spp., *Argyroploce* spp., *Barathra brassicae*, *Borbo cinnara*, *Bucculatrix thurberiella*, *Bupalus piniarius*, *Busseola* spp., *Cacoecia* spp., *Caloptilia theivora*, *Capua reticulana*, *Carpocapsa pomonella*, *Carposina niponensis*, *Cheimatobia brumata*, *Chilo* spp., *Choristoneura* spp., *Clysia ambiguella*, *Cnaphalocerus* spp., *Cnaphalocrocis medinalis*, *Cnephasia* spp., *Conopomorpha* spp., *Conotrachelus* spp., *Copitarsia* spp., *Cydia* spp., *Dalaca noctuides*, *Diaphania* spp., *Diatraea saccharalis*, *Earias* spp., *Ecdytolopha aurantium*, *Elasmopalpus lignosellus*, *Eldana saccharina*, *Ephestia* spp., *Epinotia* spp., *Epiphyas postvittana*, *Etiella* spp., *Eulia* spp., *Eupoecilia ambiguella*, *Euproctis* spp., *Euxoa* spp., *Feltia* spp., *Galleria mellonella*, *Gracillaria* spp., *Grapholitha* spp., *Hedylepta* spp., *Helicoverpa* spp., *Heliopsis* spp., *Hofmannophila pseudospretella*, *Homoeosoma* spp., *Homona* spp., *Hyponomeuta padella*, *Kakivoria flavofasciata*, *Laphygma* spp., *Laspeyresia molesta*, *Leucinodes orbonalis*, *Leucoptera* spp., *Lithocolletis* spp., *Lithophane antennata*, *Lobesia* spp., *Loxagrotis albicosta*, *Lymantria* spp., *Lyonetia* spp., *Malacosoma neustria*, *Maruca testulalis*, *Mamstra brassicae*, *Melanitis leda*, *Mocis* spp., *Monopis obviella*, *Mythimna separata*, *Nemapogon cloacellus*, *Nymphula* spp., *Oiketis* spp., *Oria* spp., *Orthaga* spp., *Ostrinia* spp., *Oulema oryzae*, *Panolis flammea*, *Parnara* spp., *Pectinophora* spp., *Perileucoptera* spp., *Phthorimaea* spp., *Phyllocnistis citrella*, *Phyllonorycter* spp., *Pieris* spp., *Platynota stultana*, *Plodia interpunctella*, *Plusia* spp., *Plutella xylostella*, *Prays* spp., *Prodenia* spp., *Protoparce* spp., *Pseudaletia* spp., *Pseudaletia unipuncta*, *Pseudoplusia includens*, *Pyrausta nubilalis*, *Rachiplusia nu*, *Schoenobius* spp., *Scirpophaga* spp., *Scirpophaga innotata*, *Scotia segetum*, *Sesamia* spp., *Sesamia inferens*, *Sparganothis* spp., *Spodoptera* spp., *Spodoptera praefica*, *Stathmopoda* spp., *Stomopteryx subsecivella*, *Synanthedon* spp., *Tecia solanivora*, *Thermesia*

gemmatalis, *Tinea cloacella*, *Tinea pellionella*, *Tineola bisselliella*, *Tortrix* spp., *Trichophaga tapetzella*, *Trichoplusia* spp., *Tryporyza incertulas*, *Tuta absoluta*, или *Virachola* spp.

В некоторых случаях насекомое относится к отряду Orthoptera или Saltatoria, например *Acheta domesticus*, *Dichroplus* spp., *Gryllotalpa* spp., *Hieroglyphus* spp., *Locusta* spp., *Melanoplus* spp., или *Schistocerca gregaria*.

В некоторых случаях насекомое относится к отряду Phthiraptera, например *Damalinia* spp., *Haematopinus* spp., *Linognathus* spp., *Pediculus* spp., *Ptirus pubis*, *Trichodectes* spp.

В некоторых случаях насекомое относится к отряду Psocoptera, например *Lepinatus* spp., или *Liposcelis* spp.

В некоторых случаях насекомое относится к отряду Siphonaptera, например *Ceratophyllus* spp., *Ctenocephalides* spp., *Pulex irritans*, *Tunga penetrans*, или *Xenopsylla cheopsis*.

В некоторых случаях насекомое относится к отряду Thysanoptera, например *Anaphothrips obscurus*, *Baliothrips biformis*, *Drepanothrips reuteri*, *Enneothrips flavens*, *Frankliniella* spp., *Heliothrips* spp., *Hercinothrips femoralis*, *Rhipiphorothrips cruentatus*, *Scirtothrips* spp., *Taeniothrips cardamomi*, или *Thrips* spp.

В некоторых случаях насекомое относится к отряду Zygentoma (=Thysanura), например *Stenolepisma* spp., *Lepisma saccharina*, *Lepismodes inquilinus* или *Thermobia domestica*.

В некоторых случаях насекомое относится к классу Symphyla, например *Scutigereella* spp.

В некоторых случаях насекомое представляет собой микроскопического клеща, в том числе без ограничения клещей из семейства Tarsonemidae, таких как *Phytonemus pallidus*, *Polyphagotarsonemus latus*, *Tarsonemus bilobatus* и т. п.; микроскопических клещей из семейства Eupodidae, таких как *Penthaleus erythrocephalus*, *Penthaleus major* и т. п.; паутиных клещиков, таких как *Oligonychus shinkajii*, *Panonychus citri*, *Panonychus mori*, *Panonychus ulmi*, *Tetranychus kanzawai*, *Tetranychus urticae* и т. п.; клещей из семейства Eriophyidae, таких как *Acaephylla theavagrans*, *Aceria tulipae*, *Aculops lycopersici*, *Aculops pelekassi*, *Aculus schlechtendali*, *Eriophyes chibaensis*, *Phyllocoptruta oleivora* и т. п.; клещей из семейства Acaridae, таких как *Rhizoglyphus robini*, *Tyrophagus putrescentiae*, *Tyrophagus similis* и т. п.; клещей, поражающих расплод пчел, таких как *Varroa jacobsoni*, *Varroa destructor* и т. п.; иксодовых клещей, таких как *Boophilus microplus*, *Rhipicephalus sanguineus*, *Haemaphysalis longicornis*, *Haemaphysalis flava*, *Haemaphysalis campanulata*, *Ixodes ovatus*, *Ixodes persulcatus*, *Amblyomma* spp., *Dermacentor* spp. и т. п.; Cheyletidae, таких как *Cheyletiella yasguri*, *Cheyletiella blakei* и т. п.; Demodicidae, таких как *Demodex canis*, *Demodex cati* и т. п.; Psoroptidae, таких как *Psoroptes ovis* и т. п.; Sarcoptidae, таких как *Sarcoptes scabiei*, *Notoedres cati*, *Knemidocoptes* spp. и т. п.

В таблице 3 представлены дополнительные примеры насекомых, которые вызывают заражения, которые можно лечить или предупреждать с помощью композиций

для контроля вредителей (например, биопестицидных или биорепеллентных) и соответствующих способов, описанных в данном документе.

Таблица 3. Насекомые-вредители

Обычное название	Латинское название
Мотылек кукурузный	<i>Ostrinia nubilalis</i>
Совка кукурузная	<i>Helicoverpa zea</i>
Совка малая	<i>Spodoptera exigua</i>
Совка травяная	<i>Spodoptera frugiperda</i>
Огневка кукурузная юго-западная	<i>Diatraea grandiosella</i>
Огневка кукурузная малая	<i>Elasmopalpus lignosellus</i>
Огневка стеблевая	<i>Papaipema nebris</i>
Совка луговая	<i>Pseudaletia unipuncta</i>
Совка-ипсилон	<i>Agrotis ipsilon</i>
Западная бобовая совка	<i>Striacosta albicosta</i>
Желто-полосатая совка луговая	<i>Spodoptera ornithogalli</i>
Западная желто-полосатая совка луговая	<i>Spodoptera praefica</i>
Южная совка луговая	<i>Spodoptera eridania</i>
Южная совка луговая	<i>Spodoptera eridania</i>
Совка маргаритковая	<i>Peridroma saucia</i>
Огневка стеблевая	<i>Papaipema nebris</i>
Совка капустная	<i>Trichoplusia ni</i>
Томатная острица	<i>Keiferia lycopersicella</i>
Бражник табачный	<i>Manduca sexta</i>
Помидорный бражник	<i>Manduca quinquemaculata</i>
Репница	<i>Artogeia rapae</i>
Белянка капустная	<i>Pieris brassicae</i>
Совка капустная	<i>Trichoplusia ni</i>
Капустная моль	<i>Plutella xylostella</i>
Совка малая	<i>Spodoptera exigua</i>
Совка обычная	<i>Agrotis segetum</i>
Личинка выемчатокрылой моли	<i>Phthorimaea operculella</i>
Капустная моль	<i>Plutella xylostella</i>
Совка сахарного тростника	<i>Diatraea saccharalis</i>
Зеркальная совка	<i>Crymodes devastator</i>

Тусклая совка	<i>Feltia ducens</i>
Глинистая совка	<i>Agrotis gladiaria</i>
Совка клеверная	<i>Plathypena scabra</i>
Соевая совка	<i>Pseudoplusia includes</i>
Совка бархатных бобов	<i>Anticarsia gemmatalis</i>
Блошка длинноусая	<i>Coleoptera Diabrotica barberi</i>
Блошка 11-точечная Говарда	<i>Diabrotica undecimpunctata</i>
Западный кукурузный жук	<i>Diabrotica virgifera</i>
Кукурузный долгоносик	<i>Sitophilus zeamais</i>
Колорадский жук	<i>Leptinotarsa decemlineata</i>
Жук-блошка шершавая	<i>Epitrix hirtipennis</i>
Блошка крестоцветная	<i>Phyllotreta cruciferae</i>
Жук-блошка черная	<i>Phyllotreta pusilla</i>
Перечный долгоносик	<i>Anthonomus eugeni</i>
Колорадский жук	<i>Leptinotarsa decemlineata</i>
Блошка картофельная	<i>Epitrix cucumeris</i>
Проволочник <i>Melanpotus</i> spp.	<i>Hemicrepidus memnonius</i>
Проволочники	<i>Ceutorhynchus assimilis</i>
Рапсовый семенной скрытнохоботник	<i>Phyllotreta cruciferae</i>
Блошка крестоцветная	<i>Melanolus</i> spp.
Проволочник	<i>Aeolus mellillus</i>
Личинка шелкоу пшеничного	<i>Aeolus mancus</i>
Песочный проволочник	<i>Horistonotus uhlerii</i>
Долгоносик кукурузный	<i>Sphenophorus maidis</i>
Долгоносик тимфеевки	<i>Sphenophorus zea</i>
Долгоносик мятлика	<i>Sphenophorus parvulus</i>
Южный долгоносик кукурузы	<i>Sphenophorus callosus</i>
Личинки хруща	<i>Phyllophaga</i> spp.
Жук-блошка кукурузы	<i>Chaetocnema pulicaria</i>
Японский жук	<i>Popillia japonica</i>
Жук мексиканских бобов	<i>Epilachna varivestis</i>
Жук листьев бобов	<i>Cerotoma trifurcate</i>
Шпанские мушки	<i>Epicauta pestifera</i> <i>Epicauta lemniscata</i>

Тля кукурузная листовая	Homoptera Rhopalosiphum maidis
Тля кукурузная корневая	Anuraphis maidiradicis
Тля персиковая зеленая	Myzus persicae
Тля картофельная листовая	Macrosiphum euphorbiae
Белокрылка тепличная	Trileurodes vaporariorum
Белокрылка батата	Bemisia tabaci
Белокрылка недотроги двухцветковой	Bemisia argentifolii
Тля капустная	Brevicoryne brassicae
Тля персиковая зеленая	Myzus persicae
Цикадка картофельная	Empoasca fabae
Листоблошка Кокерелля	Paratrioza cockerelli
Белокрылка недотроги двухцветковой	Bemisia argentifolii
Белокрылка батата	Bemisia tabaci
Тля морковная	Cavariella aegopodii
Тля капустная	Brevicoryne brassicae
Американская носатка	Saccharosydne saccharivora
Тля желтая сахарного тростника	Sipha flava
Кузнечик трехугольной люцерны	Spissistilus festinus
Lygus Hesperus	Hemiptera Lygus lineolaris
Слепняк	Lygus rugulipennis
Щитник	Acrosternum hilare
Коричневый пронизывающий жук	Euschistus servus
Клоп-черепашка	Blissus leucopterus leucopterus
Листовой минер	Diptera Liriomyza trifolii
Листовой минер овощей	Liriomyza sativae
Листовой минер томата	Scrobipalpa absoluta
Личинка семян кукурузы	Delia platura
Личинка капусты	Delia brassicae
Муха капустная весенняя	Delia radicum
Муха морковная	Psilia rosae
Личинка корней сахарного тростника	Tetanops myopaeformis
Кобылка отличительная	Orthoptera Melanoplus differentialis
Краснобедрая кобылка	Melanoplus femurrubrum
Полосатая кобылка	Melanoplus bivittatus

D. Моллюски

Композиции для контроля вредителей (например, биопестицидные или биорепеллентные) и соответствующие способы могут быть пригодны для снижения приспособленности моллюска, например для предупреждения или лечения заражения моллюсками у растения. Термин "моллюск" включает любой организм, принадлежащий к типу Mollusca. Предусмотрены способы доставки композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной) по отношению к моллюску путем приведения моллюска в контакт с композицией для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной). В качестве дополнения или в качестве альтернативы, способы предусматривают доставку биопестицида по отношению к растению, имеющему риск заражения инфекцией, вызываемой моллюсками, или имеющему ее, путем приведения растения в контакт с композицией для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной).

Композиции для контроля вредителей (например, биопестицидные или биорепеллентные) и соответствующие способы являются подходящими для предупреждения или лечения заражения, вызываемого наземными брюхоногими моллюсками (например, слизнями и улитками), в сельском хозяйстве и садоводстве. Они включают всех наземных слизней и улиток, которые главным образом встречаются в качестве многоядных вредителей на сельскохозяйственных и плодовых культурах. Например, моллюск может принадлежать к семейству Achatinidae, Agriolimacidae, Ampullariidae, Arionidae, Bradybaenidae, Helicidae, Hydromiidae, Lymnaeidae, Milacidae, Urocyclidae или Veronicellidae.

Например, в некоторых случаях моллюск представляет собой *Achatina* spp., *Archachatina* spp. (например, *Archachatina marginata*), *Agriolimax* spp., *Arion* spp. (например, *A. ater*, *A. circumscriptus*, *A. distinctus*, *A. fasciatus*, *A. hortensis*, *A. intermedius*, *A. rufus*, *A. subfuscus*, *A. silvaticus*, *A. lusitanicus*), *Arliomax* spp. (например, *Ariolimax columbianus*), *Biomphalaria* spp., *Bradybaena* spp. (например, *B. fruticum*), *Bulinus* spp., *Cantareus* spp. (например, *C. asperses*), *Cerpaea* spp. (например, *C. hortensis*, *C. nemoralis*, *C. hortensis*), *Cernuella* spp., *Cochlicella* spp., *Cochlodina* spp. (например, *C. laminata*), *Deroceras* spp. (например, *D. agrestis*, *D. empiricorum*, *D. laeve*, *D. panorminum*, *D. reticulatum*), *Discus* spp. (например, *D. rotundatus*), *Euomphalia* spp., *Galba* spp. (например, *G. trunculata*), *Helicella* spp. (например, *H. itala*, *H. obvia*), *Helicigona* spp. (например, *H. arbustorum*), *Helicodiscus* spp., *Helix* spp. (например, *H. aperta*, *H. aspersa*, *H. pomatia*), *Limax* spp. (например, *L. cinereoniger*, *L. flavus*, *L. marginatus*, *L. maximus*, *L. tenellus*), *Limicolaria* spp. (например, *Limicolaria aurora*), *Lymnaea* spp. (например, *L. stagnalis*), *Mesodon* spp. (например, *Meson thyroidus*), *Monadenia* spp. (например, *Monadenia fidelis*), *Milax* spp. (например, *M. gagates*, *M. marginatus*, *M. sowerbyi*, *M. budapestensis*), *Oncomelania* spp., *Neohelix* spp. (например, *Neohelix albolabris*), *Opeas* spp., *Otala* spp. (например, *Otala lacteal*), *Oxyloma* spp. (например, *O. pfeifferi*), *Pomacea* spp. (например, *P. canaliculata*), *Succinea* spp., *Tandonia* spp. (например, *T. budapestensis*, *T. sowerbyi*), *Theba* spp., *Vallonia*

spp. или *Zonitoides* spp. (например, *Z. nitidus*).

Е. Нематоды

Композиции для контроля вредителей (например, биопестицидные или биорепеллентные) и соответствующие способы могут быть пригодны для снижения приспособленности нематоды, например для предупреждения или лечения заражения нематодами у растения. Термин "нематода" включает любой организм, принадлежащий к типу *Nematoda*. Предусмотрены способы доставки композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной) по отношению к нематоде путем приведения нематоды в контакт с композицией для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной). В качестве дополнения или в качестве альтернативы, способы предусматривают доставку биопестицида по отношению к растению, имеющему риск заражения инфекцией, вызываемой нематодами, или имеющему ее, путем приведения растения в контакт с композицией для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной).

Композиции для контроля вредителей (например, биопестицидные или биорепеллентные) и соответствующие способы подходят для предупреждения или лечения заражения нематодами, которые вызывают повреждение растений, в том числе, например, *Meloidogyne* spp. (корневой нарост), *Heterodera* spp., *Globodera* spp., *Pratylenchus* spp., *Helicotylenchus* spp., *Radopholus similis*, *Ditylenchus dipsaci*, *Rotylenchulus reniformis*, *Xiphinema* spp., *Aphelenchoides* spp. и *Belonolaimus longicaudatus*. В некоторых случаях нематода представляет собой паразитическую нематоду растения или нематоду, обитающую в почве. Паразитические нематоды растений включают без ограничения эктопаразитов, таких как *Xiphinema* spp., *Longidorus* spp. и *Trichodorus* spp.; полупаразитов, таких как *Tylenchulus* spp.; мигрирующих эндопаразитов, таких как *Pratylenchus* spp., *Radopholus* spp. и *Scutellonema* spp.; прикрепленных паразитов, таких как *Heterodera* spp., *Globodera* spp. и *Meloidogyne* spp., а также эндопаразитов стеблей и листьев, таких как *Ditylenchus* spp., *Aphelenchoides* spp. и *Hirshmaniella* spp. Особенно вредными корневыми паразитическими почвенными нематодами являются такие как цистообразующие нематоды родов *Heterodera* или *Globodera* и/или клубеньковые нематоды рода *Meloidogyne*. Вредоносными видами этих родов являются, например, *Meloidogyne incognita*, *Heterodera glycines* (соевая цистообразующая нематода), *Globodera pallida* и *Globodera rostochiensis* (картофельная цистообразующая нематода), эти виды эффективно контролируются с помощью композиций для контроля вредителей (например, биопестицидных или биорепеллентных), описанных в данном документе. Однако применение композиций для контроля вредителей (например, биопестицидных или биорепеллентных), описанных в данном документе, ни в коем случае не ограничено этими родами или видами, но также распространяется подобным образом на других нематод.

Другие примеры нематод, на которые можно целенаправленно воздействовать с помощью способов и композиций, описанных в данном документе, включают без ограничения, например, *Aglenchus agricola*, *Anguina tritici*, *Aphelenchoides arachidis*,

Aphelenchoides fragaria и эндопаразитов стеблей и листьев *Aphelenchoides* spp. как правило, *Belonolaimus gracilis*, *Belonolaimus longicaudatus*, *Belonolaimus nortoni*, *Bursaphelenchus cocophilus*, *Bursaphelenchus eremus*, *Bursaphelenchus xylophilus*, *Bursaphelenchus mucronatus*, и *Bursaphelenchus* spp. как правило, *Sacopaurus pestis*, *Criconemella curvata*, *Criconemella onoensis*, *Criconemella ornata*, *Criconemella rusium*, *Criconemella* хеноплах (= *Mesocriconema* хеноплах) и *Criconemella* spp. как правило, *Criconemoides femiae*, *Criconemoides onoense*, *Criconemoides ornatum* и *Criconemoides* spp. как правило, *Ditylenchus destructor*, *Ditylenchus dipsaci*, *Ditylenchus myceliophagus* и эндопаразитов стеблей и листьев *Ditylenchus* spp. как правило, *Dolichodorus heterocephalus*, *Globodera pallida* (= *Heterodera pallida*), *Globodera rostochiensis* (картофельную нематоду), *Globodera solanacearum*, *Globodera tabacum*, *Globodera virginia* и неподвижных цистообразующих паразитов *Globodera* spp. как правило, *Helicotylenchus digonicus*, *Helicotylenchus dihystra*, *Helicotylenchus erythrine*, *Helicotylenchus multicinctus*, *Helicotylenchus nannus*, *Helicotylenchus pseudorobustus* и *Helicotylenchus* spp. как правило, *Hemicriconemoides*, *Hemicycliophora arenaria*, *Hemicycliophora nudata*, *Hemicycliophora parvana*, *Heterodera avenae*, *Heterodera cruciferae*, *Heterodera glycines* (соевую цистообразующую нематоду), *Heterodera oryzae*, *Heterodera schachtii*, *Heterodera zae* и неподвижных цистообразующих паразитов *Heterodera* spp. как правило, *Hirschmaniella gracilis*, *Hirschmaniella oryzae*, *Hirschmaniella spinicaudata* и эндопаразитов стеблей и листьев *Hirschmaniella* spp. как правило, *Hoplolaimus aegyptii*, *Hoplolaimus californicus*, *Hoplolaimus columbus*, *Hoplolaimus galeatus*, *Hoplolaimus indicus*, *Hoplolaimus magnistylus*, *Hoplolaimus pararobustus*, *Longidorus africanus*, *Longidorus breviannulatus*, *Longidorus elongatus*, *Longidorus laevicapitatus*, *Longidorus vineacola* и эктопаразитов *Longidorus* spp. как правило, *Meloidogyne acronea*, *Meloidogyne africana*, *Meloidogyne arenaria*, *Meloidogyne arenaria thamesi*, *Meloidogyne artiella*, *Meloidogyne chitwoodi*, *Meloidogyne coffeicola*, *Meloidogyne ethiopica*, *Meloidogyne exigua*, *Meloidogyne fallax*, *Meloidogyne graminicola*, *Meloidogyne graminis*, *Meloidogyne hapla*, *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne incognita acrita*, *Meloidogyne javanica*, *Meloidogyne kikuyensis*, *Meloidogyne minor*, *Meloidogyne naasi*, *Meloidogyne paranaensis*, *Meloidogyne thamesi* и неподвижных паразитов *Meloidogyne* spp. как правило, *Meloinema* spp., *Nacobbus aberrans*, *Neotylenchus vigissi*, *Paraphelenchus pseudoparietinus*, *Paratrichodorus allius*, *Paratrichodorus lobatus*, *Paratrichodorus minor*, *Paratrichodorus nanus*, *Paratrichodorus porosus*, *Paratrichodorus teres* и *Paratrichodorus* spp. как правило, *Paratylenchus hamatus*, *Paratylenchus minutus*, *Paratylenchus projectus* и *Paratylenchus* spp. как правило, *Pratylenchus agilis*, *Pratylenchus alleni*, *Pratylenchus andinus*, *Pratylenchus brachyurus*, *Pratylenchus cerealis*, *Pratylenchus coffeae*, *Pratylenchus crenatus*, *Pratylenchus delattrei*, *Pratylenchus giibbicaudatus*, *Pratylenchus goodeyi*, *Pratylenchus hamatus*, *Pratylenchus hexincisus*, *Pratylenchus loosi*, *Pratylenchus neglectus*, *Pratylenchus penetrans*, *Pratylenchus pratensis*, *Pratylenchus scribneri*, *Pratylenchus teres*, *Pratylenchus thornei*, *Pratylenchus vulnus*, *Pratylenchus zae* и мигрирующих эндопаразитов *Pratylenchus* spp. как правило, *Pseudohalenchus minutus*, *Psilenchus magnidens*, *Psilenchus*

tumidus, *Punctodera chalconensis*, *Quinisulcius acutus*, *Radopholus citrophilus*, *Radopholus similis*, мигрирующих эндопаразитов *Radopholus* spp. как правило, *Rotylenchulus borealis*, *Rotylenchulus parvus*, *Rotylenchulus reniformis* и *Rotylenchulus* spp. как правило, *Rotylenchus laurentinus*, *Rotylenchus macrodoratus*, *Rotylenchus robustus*, *Rotylenchus uniformis* и *Rotylenchus* spp. как правило, *Scutellonema brachyurum*, *Scutellonema bradys*, *Scutellonema clathricaudatum* и мигрирующих эндопаразитов *Scutellonema* spp. как правило, *Subanguina radiciola*, *Tetylenchus nicotianae*, *Trichodorus cylindricus*, *Trichodorus minor*, *Trichodorus primitivus*, *Trichodorus proximus*, *Trichodorus similis*, *Trichodorus sparsus* и эктопаразитов *Trichodorus* spp. как правило, *Tylenchorhynchus agri*, *Tylenchorhynchus brassicae*, *Tylenchorhynchus clarus*, *Tylenchorhynchus claytoni*, *Tylenchorhynchus digitatus*, *Tylenchorhynchus ebriensis*, *Tylenchorhynchus maximus*, *Tylenchorhynchus nudus*, *Tylenchorhynchus vulgaris* и *Tylenchorhynchus* spp. как правило, *Tylenchulus semipenetrans* и полупаразитов *Tylenchulus* spp. как правило, *Xiphinema americanum*, *Xiphinema brevicolle*, *Xiphinema dimorphicaudatum*, *Xiphinema index* и эктопаразитов *Xiphinema* spp. как правило.

Другие примеры нематод-вредителей включают виды, принадлежащие к семейству *Criconeematidae*, *Belonolaimidae*, *Noploaimidae*, *Heteroderidae*, *Longidoridae*, *Pratylenchidae*, *Trichodoridae*, или *Anguinidae*.

В таблице 4 представлены дополнительные примеры нематод и ассоциированных с ними заболеваний, которые можно лечить или предупреждать с помощью композиций для контроля вредителей (например, биопестицидных или биорепеллентных) и соответствующих способов, описанных в данном документе.

Таблица 4. Нематоды-вредители

Заболевание	Возбудитель
Шиловидное образование	<i>Dolichoderus</i> spp., <i>D. heterocephalus</i>
Луковица и стебель (европейский)	<i>Ditylenchus dipsaci</i>
Образование ходов	<i>Radopholus similes</i> <i>R. similis</i>
Циста	<i>Heterodera avenae</i> , <i>H. zaeae</i> , <i>H. schachtii</i> ; <i>Globodera rostochiensis</i> , <i>G. pallida</i> , <i>u G. tabacum</i> ; <i>Heterodera trifolii</i> , <i>H. medicaginis</i> , <i>H. ciceri</i> , <i>H. mediterranea</i> , <i>H. cyperi</i> , <i>H. salixophila</i> , <i>H. zaeae</i> , <i>H. goettingiana</i> , <i>H. riparia</i> , <i>H. humuli</i> , <i>H. latipons</i> , <i>H. sorghi</i> , <i>H. fici</i> , <i>H. litoralis</i> , <i>u H. turcomanica</i> ; <i>Punctodera chalconensis</i>
Зубчатость	<i>Xiphinema</i> spp., <i>X. americanum</i> , <i>X. Mediterraneum</i>

Ненастоящий корневой нарост	<i>Nacobbus dorsalis</i>
Копьевидное образование	<i>Hoplolaimus</i> spp., <i>H. galeatus</i>
Копьевидное образование, Колубмия	<i>Hoplolaimus</i> Columbus
Повреждение	<i>Pratylenchus</i> spp., <i>P. brachyurus</i> , <i>P. coffeae</i> , <i>P. crenatus</i> , <i>P. hexincisus</i> , <i>P. neglectus</i> , <i>P. penetrans</i> , <i>P. scribneri</i> , <i>P. magnica</i> , <i>P. neglectus</i> , <i>P. thornei</i> , <i>P. vulnus</i> , <i>P. zae</i>
Игольчатое образование	<i>Longidorus</i> spp., <i>L. breviannulatus</i>
Другие	<i>Hirschmanniella</i> species, <i>Pratylenchoid magnicauda</i>
Кольцевое образование	<i>Criconemella</i> spp., <i>C. ornata</i>
Коневой нарост	<i>Meloidogyne</i> spp., <i>M. arenaria</i> , <i>M. chitwoodi</i> , <i>M. artiellia</i> , <i>M. fallax</i> , <i>M. hapla</i> , <i>M. javanica</i> , <i>M. incognita</i> , <i>M. microtyla</i> , <i>M. partityla</i> , <i>M. panyuensis</i> , <i>M. paranaensis</i>
Спиральное образование	<i>Helicotylenchus</i> spp.
Кольцевое образование	<i>Belonolaimus</i> spp., <i>B. longicaudatus</i>
Щетинистый корнеплод	<i>Paratrichodorus</i> spp., <i>P. christiei</i> , <i>P. minor</i> , <i>Quinisulcius acutus</i> , <i>Trichodorus</i> spp.
Остановка роста	<i>Tylenchorhynchus dubius</i>

F. Вирусы

Композиции для контроля вредителей (например, биопестицидные или биорепеллентные) и соответствующие способы могут быть пригодны для снижения приспособленности вируса, например для предупреждения или лечения вирусной инфекции у растения. Предусмотрены способы доставки композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной) по отношению к вирусу путем приведения вируса в контакт с композицией для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной). В качестве дополнения или в качестве альтернативы, способы предусматривают доставку композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной) по отношению к растению, имеющему риск заражения вирусной инфекцией или имеющему ее, путем приведения растения в контакт с композицией для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной).

Композиции для контроля вредителей (например, биопестицидные или биорепеллентные) и соответствующие способы являются подходящими для доставки по отношению к вирусу, который вызывает вирусные заболевания у растений, в том числе вирусы и заболевания, перечисленные в таблице 5.

Таблица 5. Вирусные патогены растений

Заболевание	Возбудитель
Альфамовирусы:	альфамовирус мозаики люцерны
Bromoviridae	
Альфакриптовирuсы:	альфакриптовирuс 1 люцерны, альфакриптовирuс 1 свеклы, альфакриптовирuс 2
Partitiviridae	свеклы, альфакриптовирuс 3 свеклы, альфакриптовирuс 1
	гвоздики, умеренный альфакриптовирuс 1 моркови, умеренный
	альфакриптовирuс 3 моркови, умеренный альфакриптовирuс 4 моркови,
	альфакриптовирuс ежи сборной, альфакриптовирuс 1 трилистника, альфакриптовирuс
	3 трилистника, альфакриптовирuс редиса с желтым краем,
	альфаакриптовирuс райграсса, умеренный альфакриптовирuс шпината,
	альфакриптовирuс <i>Vicia</i> , альфакриптовирuс 1 белого клевера, альфакриптовирuс
	3 белого клевера
Баднавирусы	баднавирус полосатости банана, баднавирус деформации побегов <i>Casaо</i> , баднавирус
	желтой пятнистости <i>Сanna</i> , баднавирус желтой пятнистости <i>Commelina</i> ,
	бацилоформный баднавирус <i>Dioscorea</i> , баднавирус пятнистости макушки
	каланхоэ, бацилоформный баднавирус риса тунгро, баднавирус кольцевой пятнистости
	<i>Schefflera</i> , бацилоформный баднавирус сахарного тростника
Бетакриптовирuсы:	умеренный бетакриптовирuс 2 моркови, бетакриптовирuс 2 трилистника,

Partitiviridae	бетакриптовирус 2 красного клевера, бетакриптовирус 2 белого клевера
Бигеминивирусы:	бигеминивирус мозаики Abutilon, бигеминивирус желтых прожилок
Geminiviridae	Ageratum, бигеминивирус мозаики калико бобов, бигеминивирус золотой мозаики
	бобов, бигеминивирус желтой прожилковой мозаики Bhendi,
	бигеминивирус мозаики африканского маниока, бигеминивирус мозаики индийского
	маниока, бигеминивирус Chino del Tomate, бигеминивирус складчатости листьев
	хлопчатника, бигеминивирус курчавости листьев хлопчатника, бигеминивирус желтой прожилковой
	мозаики кротона, бигеминивирус желтой мозаики Dolichos,
	бигеминивирус мозаики Euphorbia, бигеминивирус желтой мозаики
	долихоса двухцветкового, бигеминивирус мозаики Jatropha, бигеминивирус золотистой мозаики
	лимской фасоли, бигеминивирус курчавости листьев дыни, бигеминивирус желтой
	мозаики золотистой фасоли, бигеминивирус курчавости листьев окры, бигеминивирус
	перца Hausteco, бигеминивирус перца Texas, бигеминивирус желтой
	мозаики картофеля, бигеминивирус мозаики Rhynchosia, бигеминивирус
	золотистой мозаики Serrano, бигеминивирус курчавости листьев патиссона,
	бигеминивирус курчавости листьев табака, бигеминивирус курчавости листьев австралийского
	томата, бигеминивирус золотой мозаики томата, бигеминивирус
	курчавости листьев индийского томата, бигеминивирус складчатости листьев томата,

	бигеминивирус пятнистости томата, бигеминивирус желтой курчавости листьев
	томата, бигеминивирус желтой мозаики томата, бигеминивирус
	хлоротической остановки роста арбуза, бигеминивирус курчавости и пятнистости
	арбуза
Бромовирусы:	бромовирус пятнистости кормовых бобов, бромовирус мозаики Bromе, бромовирус
Bromoviridae	желтой крапчатости Cassia, бромовирус хлоротической крапчатости вигны,
	бромовирус желтой пятнистости Melandrium, латентный бромовирус
	клеитонии
Бимовирусы:	бимовирус легкой мозаики ячменя, бимовирус желтой мозаики ячменя,
Potyviridae	бимовирус мозаики овса, бимовирус некротической мозаики риса, бимовирус
	веретеновидной полосатой мозаики пшеницы, бимовирус желтой мозаики пшеницы
Капилловирусы	капилловирус желобления ствола яблони, капилловирус вишни А, капилловирус
	кольцевой пятнистости citrusовых, капилловирус хлоротических листьев лилейных
Карлавирусы	карлавирус ожега голубики, карлавирус кактусовых 2, латентный
	карлавирус каперсов, латентный карлавирус гвоздики, карлавирус В
	Chrysanthemum, латентный карлавирус одуванчика, карлавирус бузины, карлавирус S
	фигового дерева, карлавирус S Helenium, латентный карлавирус жимолости,
	американский латентный карлавирус хмеля, латентный карлавирус хмеля, карлавирус мозаики

	хмеля, латентный карлавирус Kalanchoe, карлавирус крапчатости лилейных, бессимптомный
	карлавирус лилии, латентный карлавирус шелковицы, карлавирус
	некроза прожилок дыни мускатной, латентный карлавирус Nerine, латентный карлавирус
	Passiflora, карлавирус полосатости гороха, карлавирус мозаики тополя, карлавирус М
	картофеля, карлавирус S картофеля, карлавирус мозаики прожилок красного клевера,
	латентный карлавирус шалота, псевдолегкий карлавирус клубники с желтыми
	краями
Кармовирусы:	кармовирус легкой мозаики бобов, кармовирус хлоротической пятнистости
Tombusviridae	Cardamine, кармовирус крапчатости гвоздики, кармовирус пятнистости листьев
	огурца, кармовирус огурца, передающийся через почву, кармовирус мозаики
	Galinsoga, кармовирус хлоротической кольцевой пятнистости Hibiscus, кармовирус некротической
	пятнистости дыни, кармовирус полосатости цветков Pelargonium, кармовирус курчавости
	тюльпана
Каулимовирусы	каулимовирус красной кольцевой пятнистости голубики, каулимовирус выемчатых краев
	гвоздики, каулимовирус мозаики цветной капусты, каулимовирус мозаики
	Dahlia, каулимовирус мозаики норичника, латентный каулимовирус
	хрена, каулимовирус мозаики Mirabilis, каулимовирус хлоротических
	полосатости арахиса, каулимовирус хлоротической пятнистости сои, каулимовирус

	батата, каулимовирус пятнистости чертополоха
Клостеровирусы	клостеровирус желтого увядания свеклы, клостеровирус желтизны свеклы, клостеровирус
	тяжелого хлороза кормовых бобов, клостеровирус желтизны лопуха,
	клостеровирус некротической пятнистости гвоздики, клостеровирус увядания Citrus,
	клостеровирус желтизны клевера, клостеровирус, ассоциированный с пористостью стебля виноградной
	лозы, клостеровирус желтизны листьев пшеницы
Комовирусы:	комовирус крапчатости бобовых стручков, комовирус складчатой мозаики бобов, комовирус
<i>Comoviridae</i>	пятнистости кормовых бобов, комовирус истинной мозаики кормовых бобов, комовирус
	мозаики вигны, комовирус тяжелой мозаики вигны, комовирус
	мозаики глицинии, комовирус легкой мозаики гороха, комовирус андийской
	пятнистости картофеля, комовирус мозаики перепелиного гороха, комовирус мозаики
	редиса, комовирус крапчатости красного клевера, комовирус мозаики
	патиссона, комовирус C Ullucus
Кукумовирусы:	кукумовирус мозаики огурца, кукумовирус задержки роста арахиса, кукумовирус
<i>Bromoviridae</i>	аспермии томата
Циторабдовирусы:	циторабдовирус мозаики желтой полосатости ячменя, циторабдовирус желтых прожилок
<i>Rhabdoviridae</i>	кормовых бобов, циторабдовирус некротической желтизны брокколи,
	циторабдовирус северной мозаики злаковых, циторабдовирус полосатости листьев
	<i>Festuca</i> , циторабдовирус некротической желтизны латука,

	циторабдовирус <i>Sonchus</i> , циторабдовирус курчавости клубники
Диантовирussy	диантовирussy кольцевых пятен гвоздики, диантовирussy некротической мозаики красного клевера, диантовирussy некротической мозаики сладкого клевера
Энамовирussy	энамовирussy деформирующей мозаики гороха
Фидживирussy:	фидживирussy тяжелой карликовости маиса, фидживирussy стерильной карликовости овса, фидживирussy
Reoviridae	задержки роста росички, фидживирussy черной полосатой карликовости риса, фидживирussy болезни сахарного тростника
Фуровирussy	фуровирussy некротических желтых прожилок свеклы, фуровирussy свеклы, передающийся через почву,
	фуровирussy некроза кормовых бобов, фуровирussy золотой полосатости овса, фуровирussy
	скученности арахиса, фуровирussy метельчатости верхушки картофеля, фуровирussy хлористой пятнистости
	<i>Sorghum</i> , фуровирussy мозаики пшеницы, передающейся через почву
Хордейвирussy	латентный хордейвирussy побледнения <i>Anthoxanthum</i> , хордейвирussy мозаичной полосатости
	ячменя, хордейвирussy кольцевой пятнистости <i>Lynchnis</i> , полулатентный хордейвирussy
	<i>Poa</i>
Гибригеминивирussy:	гибригеминивирussy курчавости верхушки свеклы, гибригеминивирussy псевдокурчавости верхушки
Geminiviridae	томата
Идеовирussy	Идеовирussy кустистой карликовости малины
Иларвирussy:	иларвирussy мозаики яблони, иларвирussy 2 <i>Asparagus</i> , иларвирussy некротического
Bromoviridae	шока голубики, иларвирussy складчатости листьев цитруса, иларвирussy мозаицизма
	<i>Citrus</i> , иларвирussy крапчатости вяза, иларвирussy <i>Humulus</i>

	japonicus,
	иларвирус мозаики Hydrangea, иларвирус кольцевой пятнистости лилейных, иларвирус
	крапчатости Parietaria, иларвирус сливы с паттерном американской разметки, иларвирус карликовости
	чернослива, иларвирус некротической кольцевой пятнистости Prunus, латентный иларвирус шпината,
	иларвирус полосатости табака, иларвирус мозаики яблони Tulare
Ипомовирусы:	ипомовирус легкой крапчатости батата, ипомовирус желтой карликовости
Potyviridae	батата
Лютеовирусы	лютеовирус желтой карликовости ячменя, лютеовирус скручивания листьев бобов, лютеовирус легкого
	пожелтения свеклы, западный лютеовирус пожелтения свеклы, лютеовирус покраснения
	листьев моркови, лютеовирус вспомогательных розеток земляного ореха, лютеовирус скручивания листьев
	картофеля, лютеовирус пожелтения Solanum, лютеовирус карликовости сои,
	индонезийский лютеовирус карликовости сои, лютеовирус легкой желтизны краев
	клубники, лютеовирус листьев красного подземного клевера, лютеовирус
	некротической карликовости табака
Махломовирусы	махломовирус хлоротической крапчатости маиса
Маклуравирусы	маклуравирус мозаики Maclura, латентный маклуравирус Narcissus
Марафивирусы	марафивирус выгравированной линии бермудской травы, марафивирус маиса gayado
	fino, марафивирус голубой карликовости овса
Моногеминивирусы:	моногеминивирус полосатой мозаики Chloris, моногеминивирус полосатой мозаики
Geminiviridae	Digitaria, моногеминивирус полосатости Digitaria,

	моногеминивирус полосатости
	маиса, моногеминивирус полосатости <i>Miscanthus</i> , моногеминивирус
	полосатости <i>Panicum</i> , моногеминивирус полосатой мозаики
	<i>Paspalum</i> , моногеминивирус полосатости сахарного тростника, моногеминивирус
	желтой карликовости табака, моногеминивирус карликовости пшеницы
Нанавирусы	нанавирус кустистости верхушки банана, нанавирус гниения листьев кокоса
	нанавирус некротической желтизны конских бобов, нанавирус карликовости астрагала,
	нанавирус остановки роста подземного клевера
Некровирусы	некривирус некроза табака, некривирус желтой полосатости гвоздики,
	некривирус некроза <i>Lisianthus</i>
Неповирусы:	неповирус мозаики <i>Arabis</i> , неповирус А аракачи, итальянский латентный
Comoviridae	неповирус артишока, неповирус желтой кольцевой пятнистости артишока, неповирус
	крапчатости листьев голубики, неповирус некроза <i>Casaо</i> , неповирус зеленой
	крапчатости маниока, неповирус скручивания листьев вишни, неповирус раздробленных листьев
	вишни, неповирус желтой крапчатости цикория, латентный неповирус клевера
	мясокрасного, неповирус некротической остановки роста <i>Sucas</i> , болгарский латентный
	неповирус виноградной лозы, неповирус хромовой мозаики виноградной лозы, неповирус
	короткоузлия виноградной лозы, латентный неповирус кольцевой пятнистости <i>Hibiscus</i> , австралийский
	латентный неповирус цюцерны, неповирус кольцевой пятнистости шелковицы,

	латентный неовирус кольцевой пятнистости миробалана, латентный неовирус кольцевой пятнистости
	оливы, неовирус мозаики розетов персика, неовирус черной кольцевой пятнистости
	картофеля, неовирус U картофеля, неовирус кольцевой пятнистости малины,
	неовирус кольцевой пятнистости табака, неовирус черной кольцевой пятнистости томата, неовирус
	кольцевой пятнистости томата
Нуклеорабдовирусы:	латентный нуклеорабдовирус моркови, нуклеорабдовирус перистых красных прожилок
Rhabdoviridae	кориандра, нуклеорабдовирус мозаики борщевика обыкновенного,
	нуклеорабдовирус хлоротической полосатости <i>Cynodon</i> , нуклеорабдовирус желтых прожилок
	<i>Datura</i> , нуклеорабдовирус крапчатой карликовости баклажана,
	нуклеорабдовирус мозаики маиса, нуклеорабдовирус желтых прожилок
	<i>Pittosporum</i> , нуклеорабдовирус желтой карликовости картофеля,
	нуклеорабдовирус желтой сети <i>Sonchus</i> , нуклеорабдовирус желтых прожилок
	осота, нуклеорабдовирус просветления жилок томата, американский
	нуклеорабдовирус полосатой мозаики пшеницы
Оризавирусы:	оризавирус неровной остановки роста <i>Echinochloa</i> , оризавирус неровной остановки роста риса
Reoviridae	
Оурмиавирусы	ивуарский бациллоформный оурмиавирус маниока, эфирский оурмиавирус
	вишни, оурмиавирус дыни <i>Ourmia</i> , оурмиавирус зональной пятнистости
	<i>Pelargonium</i>

Фитореовирусы:	фитореовирус раневой опухоли клевера, фитореовирус карликовости риса, фитореовирус
Reoviridae	галловой карликовости риса, фитореовирус кустистой остановки роста риса, фитореовирус
	батата
Потексвирусы	потексвирус 3 <i>Asparagus</i> , потексвирус X кактусовых, потексвирус X
	маниока, потексвирус X цикория, потексвирус желтой мозаики
	клевера, потексвирус X <i>Commelina</i> , потексвирус мозаики
	<i>Cymbidium</i> , потексвирус X <i>Daphne</i> , потексвирус мозаики лисохвоста,
	потексвирус кольцевой пятнистости <i>Hydrangea</i> , потексвирус X лилии, потексвирус
	мозаики <i>Narcissus</i> , потексвирус X <i>Nerine</i> , потексвирус мозаики папайи,
	потексвирус мозаики пепино, потексвирус мозаики <i>Plantago asiatica</i> ,
	потексвирус X плантана, потексвирус мозаики <i>Potato aucuba</i> , потексвирус X
	картофеля, потексвирус X тюльпана, потексвирус крапчатости <i>Viola</i> , потексвирус
	мозаики белого клевера
Потивирусы:	потивирус мозаики <i>Alstroemeria</i> , потивирус крапчатости листьев <i>Amaranthus</i> ,
Potyviridae	потивирус мозаики <i>Araujia</i> , потивирус Y арахчи, латентный потивирус
	артишока, потивирус 1 <i>Asparagus</i> , потивирус мозаики прилистников банана,
	потивирус обычного мозаичного некроза бобов, потивирус обычной мозаики
	бобов, потивирус желтой мозаики бобов, потивирус мозаики свеклы,
	потивирус мозаики <i>Bidens</i> , потивирус крапчатости <i>Bidens</i> ,

	потивирус
	мозаики кардамона, потивирус крапчатости прожилок гвоздики, потивирус истончения листьев
	моркови, потивирус бурой полосатости маниока, потивирус желтой пятнистости
	Cassia, потивирус мозаики сельдерея, потивирус кустистой карликовости
	цикория, потивирус деформационной мозаики нута, потивирус желтизны
	прожилок клевера, потивирус <i>Commelina diffusa</i> , потивирус мозаики
	<i>Commelina</i> , потивирус зеленого окаймления жилок вигны, марокканский
	потивирус мозаики вигны, передаваемый через тлей, потивирус складчатой мозаики
	нута, потивирус мозаики <i>Crinum</i> , потивирус Y <i>Daphne</i> , потивирус
	мозаики колоказии, колумбийский потивирус <i>Datura</i> , потивирус деформационной
	мозаики <i>Datura</i> , потивирус некроза <i>Datura</i> , потивирус истонченности
	<i>Datura</i> , потивирус мозаики <i>Dendrobium</i> , потивирус мозаики
	<i>Desmodium</i> , потивирус <i>Dioscorea alata</i> , потивирус зеленой полосатой
	мозаики <i>Dioscorea</i> , потивирус зеленой мозаики баклажана, потивирус
	кольцевой пятнистости <i>Euphorbia</i> , потивирус мозаики <i>Freesia</i> , потивирус глазковой пятнистости
	земляного ореха, бессимптомный потивирус гуара, потивирус мозаики проса
	гвинейского, потивирус Y <i>Helenium</i> , потивирус мозаики белены,
	потивирус мозаики <i>Hippeastrum</i> , потивирус мозаики <i>Hyacinth</i> , потивирус

	мозаики <i>Iris fulva</i> , потивирус дегкой мозаики <i>Iris</i> , потивирус тяжелой
	мозаики <i>Iris</i> , потивирус мозаики сорго алепского, потивирус Y
	<i>Kennedy</i> , потивирус желтой полосатости лука-порея, потивирус мозаики латука,
	потивирус крапчатости лилии, потивирус карликовой мозаики маиса, потивирус просветления
	прожилок <i>Malva</i> , потивирус крапчатости календулы, потивирус желтой
	полосатости <i>Narcissus</i> , потивирус <i>Nerine</i> , потивирус желтой карликовости лука,
	потивирус мозаики <i>Ornithogalum</i> , потивирус кольцевой пятнистости папайи, потивирус
	мозаики пастернака, потивирус кольцевой пятнистости <i>Passiflora</i> , южно-африканский
	потивирус <i>Passiflora</i> , потивирус лесистости маракуйи, потивирус
	мозаики пачули, потивирус мозаики гороха, потивирус мозаики гороха, передаваемый через
	семена, потивирус зеленой мозаики арахиса, потивирус крапчатости арахиса,
	индийский потивирус крапчатости перца, потивирус крапчатости перца, потивирус
	тяжелой мозаики перца, потивирус прожилковой крапчатости перца, потивирус оспы
	сливы, потивирус мозаики лаконоса, потивирус А картофеля, потивирус
	V картофеля, потивирус Y картофеля, потивирус мозаики <i>Primula</i> ,
	потивирус крапчатости <i>Ranunculus</i> , потивирус мозаики <i>Sorghum</i> , потивирус
	мозаики сои, потивирус Y гвоздичника, потивирус мозаики сахарного тростника,

	потивирус перистой крапчатости батата, потивирус G батата,
	потивирус деформационной мозаики канвалии мечевидной, потивирус мозаики
	тамарилло, потивирус мозаики Telfairia, потивирус гравировки табака,
	потивирус прожилковой мозаики табака, потивирус прожилковой крапчатости
	табака, потивирус вилта табака, перуанский потивирус томата,
	потивирус традескации Zebrina, потивирус 1 Tropaeolum,
	потивирус 2 Tropaeolum, потивирус туберозы, потивирус полосатой пестролепестности
	тюльпана, потивирус пестролепестности тюльпана, потивирус хлоротической бородавчатости
	тюльпана, потивирус мозаики турнепса, потивирус мозаики Ullucus,
	потивирус мозаики Vallota, потивирус мозаики ванили, потивирус
	некроза ванили, потивирус деформационной мозаики Voandzeia,
	потивирус 1 мозаики арбуза, потивирус 2 мозаики арбуза,
	потивирус мозаики ипомеи пучковатой, потивирус прожилковатой мозаики Wisteria, потивирус
	мозаики ямса, потивирус желтой пятнистости цуккини, потивирус желтой
	мозаики цуккини
Римовирусы:	римовирус мозаики Hordeum, римовирус некротической крапчатости
Potyviridae	
Римовирус мозаики	
пырея	овса, римовирус мозаики райграсса, римовирус полосатой мозаики
	пшеницы
Сателлитные РНК	сателлитная РНК мозаики Arabis, сателлитная РНК желтой

	крапчатости цикория,
	сателлитная РНК мозаики огурца, сателлитная РНК короткоузлости виноградной лозы,
	сателлитная РНК латентной кольцевой пятнистости клубники, сателлитная РНК кольцевой пятнистости
	табака, сателлитная РНК черной кольцевой пятнистости томата, сателлитная РНК бархатной
	крапчатости табака
Сателливирусы	сателливирус мозаики белой линии маиса, сателливирус мозаики Panicum,
	сателливирус мозаики табака, сателливирус некроза табака
Секвивирусы:	секвивирус желтой мозаики одуванчика, секвивирус желтой пятнистости
Sequiviridae	пастернака
Собемовирусы	южный собемовирус мозаики бобов, собемовирус истонченности
	голубики, собемовирус крапчатости ежи сборной, собемовирус переходной
	полосатости люцерны, собемовирус желтой крапчатости риса, собемовирус
	желтой крапчатости Rottboellia, собемовирус крапчатости
	Solanum nodiflorum, собемовирус мозаики мари стеной, собемовирус крапчатости
	подземного клевера, собемовирус розеток тюльпана, собемовирус бархатной
	крапчатости табака
Тенуивирусы	тенуивирус штриховатости маиса, тенуивирус травянистой низкорослости риса, тенуивирус риса
	hoja blanca, тенуивирус полосатости риса
Тобамовирусы	тобамовирус зеленой крапчатой мозаики огурца, тобамовирус мозаики
	красного жасмина, тобамовирус зеленой крапчатой мозаики Kyuri,
	тобамовирус кольцевой пятнистости Odontoglossum,

	тобамовирус легкой крапчатости
	паприки, тобамовирус легкой крапчатости перца, тобамовирус мозаики
	подорожника ланцетовидного, тобамовирус Sammons Opuntia, тобамовирус мозаики
	кроталярии индийской, тобамовирус легкой зеленой мозаики табака, тобамовирус мозаики
	табака, тобамовирус мозаики томата, тобамовирус легкой крапчатости Ullucus
Тобравирuсы	тобравирус раннего побурения гороха, тобравирус кольцевой пятнистости перца, тобравирус ломкости табака
Томбусвирусы:	томбусвирус крапчатой курчавости артишока, итальянский томбусвирус кольцевой пятнистости
Tombusviridae	гвоздики, томбусвирус некроза огурца, томбусвирус кольцевой пятнистости
	Cymbidium, томбусвирус крапчатой курчавости баклажана, алжирский латентный томбусвирус
	виноградной лозы, томбусвирус Lato River, томбусвирус Neckar
	River, томбусвирус курчавости листьев Pelargonium, марокканский томбусвирус
	перца, томбусвирус астероидной мозаики Petunia, томбусвирус кустистой
	карликовости томата
Тосповирусы:	тосповирус некротической пятнистости Impatiens, тосповирус желтой пятнистости арахиса,
Bunyaviridae	тосповирус пятнистого вилта томата
Триховирусы	триховирус хлоротической пятнистости листьев яблони, латентный триховирус Heracleum,
	триховирус Т картофеля
Тимовирусы	латентный тимовирус Abelia, тимовирус крапчатости Belladonna, тимовирус
	желтой мозаики Cacao, тимовирус желтизны прожилок

	Clitoria,
	тимовирус желтой крапчатости Desmodium, тимовирус крапчатости Dulcamara,
	тимовирус мозаики баклажана, латентный тимовирус Erysimum, тимовирус
	желтой мозаики Kennedyya, тимовирус складчатой мозаики дыни, тимовирус
	мозаики окры, тимовирус желтой мозаики Ononis, тимовирус
	желтой мозаики маракуйи, тимовирус мозаики Physalis, тимовирус
	крапчатости Plantago, андийский латентный тимовирус картофеля, тимовирус
	крапчатости Scrophularia, тимовирус желтой мозаики турнепса, тимовирус
	некротической мозаики Voandzeia, тимовирус мозаики дикого огурца
Умбравирусы	умбравирус расслоения желтых прожилок бобов, умбравирус-имитатор крапчатости
	моркови, умбравирус крапчатости моркови, умбравирус-имитатора крапчатости
	моркови, умбравирус розеток земляного ореха, умбравирус пятнистой крапчатости
	латука, умбравирус крапчатости табака
Варикозавирусы	варикозавирус некроза листьев Freesia, варикозавирус разрастания прожилок латука,
	варикозавирус карликовости табака
Вайкавирусы:	вайкавирус желтизны Anthriscus, вайкавирус хлоротической карликовости маиса,
Sequiviridae	сферический вайкавирус риса тунгро
Предположительные	вирус мозаики прожилок гибридного клевера, потивирус полосатости Alstroemeria,
Негруппированные	потивирус мозаики Amaranthus, амазонский потивирус мозаики лилии,
Вирусы	потивирус мозаики Anthoxanthum, вирус бороздчатости

	ствола яблони,
	потивирус <i>Aquilegia</i> , рабдовирус <i>Asclepias</i> , рабдовирус
	<i>Atropa belladonna</i> , вирус мозаики ячменя, вирус желтой полосатой мозаики
	ячменя, вирус деформационной мозаики свеклы, рабдовирус курчавости листьев свеклы, западный
	ST9-ассоциированный РНК-вирус желтизны свеклы, вирус некроза
	малины западной, потивирус желтой мозаики ежевики, потивирус легкой
	мозаики баклажана, вирус В кормовых бобов, потивирус V кормовых бобов,
	вирус желтой кольцевой пятнистости кормовых бобов, потивирус крапчатости <i>Bryonia</i> ,
	вирус мозаики лопуха, вирус крапчатости лопуха, рабдовирус хлороза
	<i>Callistephus chinensis</i> , потивирус мозаики канареечника тростникового, потивирус
	мозаики <i>Canavalia maritima</i> , рабдовирус гвоздики, потивирус мозаики
	моркови, бессимптомный рабдовирус маниока, вирус мозаики <i>Cassia</i> ,
	вирус кольцевой пятнистости <i>Cassia</i> , потивирус желтой мозаики сельдерея, вирус
	желтой сетки сельдерея, вирус огненного хлороза сельдерея, нитевидный потивирус
	нута, потивирус сосудистой крапчатости перца чилийского, потивирус пятнистости
	<i>Chrysanthemum</i> , рабдовирус сосудистого хлороза <i>Chrysanthemum</i> , рабдовирус
	лепроза <i>Citrus</i> , вирус кольцевой пятнистости <i>Citrus</i> , вирус легкой мозаики
	клевера, потивирус полосатости ежи сборной, рабдовирус болезни bobone

	Colocasia, рабдовирус кератоза огурца, вирус пожелтения
	прожилок огурца, потивирус <i>Cyripedium calceolus</i> , венгерский потивирус мозаики
	<i>Datura innoxia</i> , потивирус <i>Dioscorea trifida</i> , потивирус
	крапчатой мозаики щавеля, вирус, ассоциированный с пожелтением <i>Dodonaea</i> ,
	потивирус тяжелой крапчатости баклажана, рабдовирус фасциации
	<i>Euponymus</i> , рабдовирус <i>Euponymus</i> , потивирус папоротников, потивирус фигового дерева,
	бессимптомный рабдовирус <i>Gerbera</i> , вирус пятнистости виноградной лозы,
	вирус низкоростости виноградной лозы, вирус некроза верхушки гуара, потивирус мозаики
	<i>Habenaria</i> , рабдовирус пожелтения <i>Holcus lanatus</i> , потивирус полосатости
	<i>Holcus</i> , рабдовирус полосатости листьев <i>Iris germanica</i> , японский вирус
	некротической кольцевой пятнистости <i>Iris</i> , потивирус мозаики <i>Isachne</i> , изометрический вирус
	<i>Kalanchoe</i> , рабдовирус посветления жилок кенафа, потивирус мозаики <i>Launaea</i> ,
	рабдовирус желтизны прожилок люпина, вирус глазковой пятнистости маиса, вирус линии
	маиса, вирус крапчатости/хлоротической низкоростости маиса, вирус мозаики белой линии
	маиса, вирус крапчатости <i>Malvastrum</i> , потивирус мозаики <i>Melilotus</i> , потивирус
	прожилковой мозаики дыни, потивирус крапчатости <i>Melothria</i> ,
	вирус мозаики <i>Mimosa</i> , потивирус крапчатости золотистой фасоли, потивирус
	вырождения <i>Narcissus</i> , потивирус позднего сезонного пожелтения <i>Narcissus</i> ,

	потивирус <i>Y Negine</i> , потивирус мозаики <i>Nothoscordum</i> , вирус кольцевой пятнистости
	дуба, рабдовирус пятнистости орхидеи, потивирус мозаики пальмы, потивирус
	зеленой крапчатости петрушки, рабдовирус петрушки, вирус курчавости листьев пастернака,
	шри-ланкийский потивирус крапчатости маракуйи, рабдовирус посветления прожилок
	маракуйи, рабдовирус крапчатости пачули, вирус некроза стебля гороха,
	потивирус остановки роста верхушки арахиса, рабдовирус хлороза прожилок арахиса,
	потивирус мозаики <i>Pecteilis</i> , потивирус легкой мозаики перца, потивирус крапчатости
	<i>Pegilla</i> , рабдовирус пролиферации голубиногo гороха, вирус
	стерильной мозаики голубиногo гороха, потивирус 7 плантана, рабдовирус крапчатости
	плантана, потивирус <i>Pleioblastus chino</i> , потивирус увядания тополя,
	потивирус крапчатости <i>Primula</i> , вирус мозаики грандиллы пурпурной,
	бессимптомный вирус <i>Ranunculus repens</i> , вирус желтой низкорослости
	риса, рабдовирус некроза листьев <i>Saintpaulia</i> , рабдовирус посветления
	прожилок <i>Sambucus</i> , рабдовирус <i>Sarracenia purpurea</i> , потивирус
	хлоротической кольцевой пятнистости клевера ползучего, вирус легкой мозаики сои, рабдовирус
	сoи, сферический вирус сои, вирус желтых прожилок сои,
	потивирус <i>Z</i> сои, латентный рабдовирус <i>C</i> клубники, вирус
	крапчатости клубники, вирус паллидоза клубники, потивирус мозаики
	подолнечника, латентный потивирус батата, потивирус

	мозаика ворсянки,
	вирус кольцевой пятнистости малины мелкоцветной, потивирус легкой крапчатости томата,
	потивирус крапчатости <i>Trichosanthes</i> , вирус кольцевого некроза тюльпана, вирус
	мозаики тюльпана, вирус посветления прожилок тюльпана, вирус курчавости листьев
	фасоли мунго, рабдовирус мозаики <i>Vigna sinensis</i> , вирус желтой пятнистости
	кресса водяного, потивирус мозаики марокканского арбуза, рабдовирус хлоротической
	пятнистости пшеницы, потивирус белой брioniии, латентный вирус малины японской,
	потивирус легкой крапчатости <i>Zinnia</i> , потивирус мозаики <i>Zoysia</i>

G. Сорняки

Используемый в данном документе термин "сорняк" относится к растению, которое растет там, где это нежелательно. Такие растения, обычно, инвазивны, а иногда вредны, или характеризуются возможностью стать таковыми. Сорняки можно обрабатывать композициями для контроля вредителей (например, биопестицидными или биорепеллентными) по настоящему изобретению для снижения или устранения присутствия, жизнеспособности или воспроизводства растения. Например, и без ограничения, способы можно применять для целенаправленного воздействия на сорняки, которые, как известно, повреждают растения. Например, и без ограничения, сорняки могут представлять собой любого представителя из следующей группы семейств: Gramineae, Umbelliferae, Papilionaceae, Cruciferae, Malvaceae, Eufhorbiaceae, Compositae, Chenopodiaceae, Fumariaceae, Charyophyllaceae, Primulaceae, Geraniaceae, Polygonaceae, Juncaceae, Cyperaceae, Aizoaceae, Asteraceae, Convolvulaceae, Cucurbitaceae, Euphorbiaceae, Polygonaceae, Portulacae, Solanaceae, Rosaceae, Simaroubaceae, Lardizabalaceae, Liliaceae, Amaranthaceae, Vitaceae, Fabaceae, Primulaceae, Apocynaceae, Araliaceae, Caryophyllaceae, Asclepiadaceae, Celastraceae, Papaveraceae, Onagraceae, Ranunculaceae, Lamiaceae, Commelinaceae, Scrophulariaceae, Dipsacaceae, Boraginaceae, Equisetaceae, Geraniaceae, Rubiaceae, Cannabaceae, Hyperiacaceae, Balsaminaceae, Lobeliaceae, Caprifoliaceae, Nyctaginaceae, Oxalidaceae, Vitaceae, Urticaceae, Polypodiaceae, Anacardiaceae, Smilacaceae, Araceae, Campanulaceae, Typhaceae, Valerianaceae, Verbenaceae, Violaceae. Например, и без ограничения, сорняки могут представлять собой любого представителя из группы, состоящей из *Lolium Rigidum*, *Amaramthus palmeri*, *Abutilon theopratsi*, *Sorghum halepense*,

Conyza Canadensis, *Setaria verticillata*, *Capsella pastoris* и *Cyperus rotundas*. Дополнительные сорняки включают, например, *Mimosapigra*, *Salvinia*, *Hyptis*, *Senna*, *Noogoora*, *Burr*, *Jatropha gossypifolia*, *Parkinsonia aculeate*, *Chromolaena odorata*, *Cryptoslegia grandiflora* или *Andropogon gayanus*. Сорняки могут включать однодольные растения (например, *Agrostis*, *Alopecurus*, *Avena*, *Bromus*, *Cyperus*, *Digitaria*, *Echinochloa*, *Lolium*, *Monochoria*, *Rottboellia*, *Sagittaria*, *Scirpus*, *Setaria*, *Sida* или *Sorghum*) или двудольные растения (*Abutilon*, *Amaranthus*, *Chenopodium*, *Chrysanthemum*, *Conyza*, *Galium*, *Ipomoea*, *Nasturtium*, *Sinapis*, *Solanum*, *Stellaria*, *Veronica*, *Viola* или *Xanthium*).

V. Гетерологичные функциональные средства

Композиции для контроля вредителей (например, биопестицидные или биорепеллентные), описанные в данном документе, могут дополнительно включать гетерологичное функциональное средство, такое как гетерологичное эффективное средство (например, пестицидное средство или репеллентное средство). В некоторых случаях композиции для контроля вредителей (например, биопестицидные или биорепеллентные) включают два или больше (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более 10) различных пестицидных и/или репеллентных средств. В некоторых случаях гетерологичное функциональное средство (например, пестицидное средство и/или репеллентное средство) включают в РМР. Например, РМР может инкапсулировать гетерологичное функциональное средство (например, пестицидное средство и/или репеллентное средство). В качестве альтернативы гетерологичное функциональное средство (например, пестицидное средство и/или репеллентное средство) может быть встроено на поверхность РМР или конъюгировано с ним.

В других случаях композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная) может быть составлена так, чтобы включать гетерологичное функциональное средство (например, пестицидное средство и/или репеллентное средство), необязательно ассоциированное с РМР. В составах и в формах для применения, полученных из этих составов, композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная) может включать дополнительные активные соединения, такие как пестицидные средства (например, инсектициды, стерилизаторы, акарициды, нематоциды, моллюскоциды, бактерициды, фунгициды, вируциды или гербициды), аттрактанты или репелленты.

Пестицидное средство может представлять собой противогрибковое средство, противобактериальное средство, инсектицидное средство, моллюскоцидное средство, нематоцидное средство, вируцидное средство или их комбинацию. Пестицидное средство может представлять собой химическое средство, например хорошо известное в уровне техники. В качестве альтернативы или в качестве дополнения, пестицидное средство может представлять собой пептид, полипептид, нуклеиновую кислоту, полинуклеотид или малую молекулу. Пестицидное средство может представлять собой средство, которое может снижать приспособленность различных вредителей растений, или может представлять собой средство, которое целенаправленно воздействует на одного или

нескольких конкретных целевых вредителей растений (например, конкретный вид или род вредителей растений).

В некоторых случаях гетерологичное функциональное средство (например, химическое соединение, молекула нуклеиновой кислоты, пептид, полипептид или малая молекула) может быть модифицировано. К примеру, модификация может представлять собой химическую модификацию, например конъюгацию с маркером, например флуоресцентным маркером или радиоактивным маркером. В других случаях модификация может включать в себя конъюгацию или функциональную связь с фрагментом, что обеспечивает повышение в отношении стабильности, доставки, целенаправленного воздействия, биологической доступности или периода полужизни средства, например липида, гликана, полимера (например, PEG), катионного фрагмента.

Примеры гетерологичных функциональных средств (например, пестицидного или репеллентного средства), которые могут быть использованы в раскрытых в настоящем изобретении композициях и способах контроля вредителей (например, биопестицидных или биорепеллентных), приведены ниже.

А. Противобактериальные средства

Композиции для контроля вредителей (например, биопестицидные или биорепеллентные), описанные в данном документе, могут дополнительно включать противобактериальное средство. В некоторых случаях композиции для контроля вредителей (например, биопестицидные или биорепеллентные) включают два или больше (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более 10) различных противобактериальных средств. Например, противобактериальное средство может снижать приспособленность (например, уменьшать рост или уничтожать) бактерии, являющейся вредителем растения (например, бактериального патогена растений). Композицию для контроля вредителей (например, биопестицидную или биорепеллентную), включающую антибиотик, который описан в данном документе, можно привести в контакт с целевым вредителем или растением, зараженным им, в количестве и в течение времени, достаточных для: (а) достижения целевого уровня (например, предварительно определенного или порогового уровня) концентрации антибиотика внутри целевого вредителя или на нем и (б) снижения приспособленности целевого вредителя. Противобактериальные средства, описанные в данном документе, могут быть составлены в композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной) для любого из способов, описанных в данном документе, и, в определенных случаях, могут быть ассоциированы с их РМР.

Используемый в данном документе термин "противобактериальное средство" относится к материалу, который уничтожает или подавляет рост, пролиферацию, деление, размножение или распространение бактерий, таких как фитопатогенные бактерии, и включает бактерицидные (например, дезинфицирующие соединения, антисептические соединения или антибиотики) или бактериостатические средства (например, соединения или антибиотики). Бактерицидные антибиотики уничтожают бактерии, в то время как бактериостатические антибиотики лишь замедляют их рост или размножение.

Бактерициды могут включать дезинфицирующие средства, антисептики или антибиотики. Наиболее часто используемые дезинфицирующие средства могут предусматривать: активный хлор (например, гипохлориты (например, гипохлорит натрия), хлорамины, дихлоризоцианурат и трихлоризоцианурат, влажный хлор, диоксид хлора и т. д.), активный кислород (пероксиды, такие как перуксусная кислота, персульфат калия, перборат натрия, перкарбонат натрия и пергидрат мочевины), йод (йодповидон (повидон-йод, бетадин), раствор Люголя, настойка йода, йодированные неионные поверхностно-активные вещества), концентрированные спирты (в основном этанол, 1-пропанол, также называемый н-пропанолом и 2-пропанолом, называемый изопропанолом и их смеси; кроме того, используются 2-феноксипропанол и 1- и 2-феноксипропанола), фенольные вещества (такие как фенол (также называемый карболовой кислотой), крезолы (называемые лизолом в сочетании с жидкими калиевыми мылами), галогенированные (хлорированные, бромированные) фенолы, такие как гексахлорфен, триклозан, трихлорфенол, трибромфенол, пентахлорфенол, дибромол и их соли), катионные поверхностно-активные вещества, такие как некоторые четвертичные аммониевые катионы (такие как хлорид бензалкония, бромид или хлорид цетилтриметиламмония, хлорид дидецилдиметиламмония, хлорид цетилпиридиния, хлорид бензетония) и другие, не четвертичные соединения, такие как хлоргексидин, глюкопротамин, дигидрохлорид октенидина и т. д.), сильные окислители, такие как озон и перманганатные растворы; тяжелые металлы и их соли, такие как коллоидное серебро, нитрат серебра, хлорид ртути, соли фенилртути, сульфат меди, оксид-хлорид меди, гидроксид меди, октаноат меди, сульфат оксихлорида меди, сульфат меди, пентагидрат сульфата меди и др. Тяжелые металлы и их соли являются наиболее токсичными и опасными для окружающей среды бактерицидами, поэтому их использование строго ограничено или отменено; кроме того, также это относится к должным образом концентрированным сильным кислотам (фосфорная, азотная, серная, амидосерная, толуолсульфоновая кислоты) и щелочам (гидроксиды натрия, калия, кальция).

В качестве антисептиков (т. е. гермицидных средств, которые можно использовать на теле, коже, слизистых оболочках, ранах и т. п. человека или животных) можно использовать некоторые из вышеупомянутых дезинфицирующих средств при надлежащих условиях (главным образом концентрации, pH, температуре и токсичности по отношению к человеку/животному). Среди них важными являются: должным образом разбавленные препараты хлора (т. е. раствор Дакина, 0,5% раствор гипохлорита натрия или калия, с доведением pH до pH 7-8, или 0,5-1% раствор бензолсульфохлорамида натрия (хлорамин В)), некоторые препараты йода, такие как йодоповидон в различных галенах (мази, растворы, пластыри для ран), в прошлом также раствор Люголя, пероксиды в виде растворов пергидрата мочевины и 0,1-0,25% pH-буференные растворы надуксусной кислоты, спирты с антисептическими добавками или без них, используемые в основном в качестве кожного антисептика, слабые органические кислоты, такие как сорбиновая кислота, бензойная кислота, молочная кислота и салициловая кислота, некоторые

фенольные соединения, такие как гексахлорфен, триклозан и дибромол, и катионно-активные соединения, такие как 0,05-0,5% бензалконий, 0,5-4% хлоргексидин, 0,1-2% растворы октенидина.

Композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная), описанная в данном документе, может включать антибиотик. Можно применять любой антибиотик, известный в уровне техники. Антибиотики обычно классифицируются на основании их механизма действия, химической структуры или спектра активности.

Антибиотик, описанный в данном документе, может целенаправленно воздействовать на любую функцию или процессы роста бактерий и может быть как бактериостатическим (например, замедлять или предупреждать рост бактерий), так и бактерицидным (например, уничтожать бактерии). В некоторых случаях антибиотик представляет собой бактерицидный антибиотик. В некоторых случаях бактерицидный антибиотик представляет собой антибиотик, который целенаправленно воздействует на клеточную стенку бактерий (например, пенициллины и цефалоспорины); антибиотик, который целенаправленно воздействует на клеточную мембрану (например, полимиксины); или антибиотик, который ингибирует важнейшие ферменты бактерий (например, рифамицины, липиармицины, хинолоны и сульфонамиды). В некоторых случаях бактерицидный антибиотик представляет собой аминогликозид (например, касугамицин). В некоторых случаях антибиотик представляет собой бактериостатический антибиотик. В некоторых случаях бактериостатический антибиотик целенаправленно воздействует на синтез белка (например, макролиды, линкозамиды и тетрациклины). Дополнительные классы антибиотиков, которые можно применять в данном документе, включают циклические липопептиды (такие как даптомицин), глицилциклины (такие как тигециклин), оксазолидиноны (такие как линезолид) или липиармицины (такие как фидаксомицин). Примеры антибиотиков включают рифампицин, ципрофлоксацин, доксициклин, ампициллин и полимиксин В. Антибиотик, описанный в данном документе, может иметь любой уровень целевой специфичности (например, узкий или широкий спектр). В некоторых случаях антибиотик представляет собой антибиотик узкого спектра действия и, таким образом, целенаправленно воздействует на конкретные типы бактерий, такие как грамотрицательные или грамположительные бактерии. В качестве альтернативы, антибиотик может представлять собой антибиотик широкого спектра действия, который целенаправленно воздействует на широкий круг бактерий. В некоторых случаях антибиотик представляет собой доксорубицин или ванкомицин.

Другие неограничивающие примеры антибиотиков приведены в таблице 6. Специалисту в данной области будет понятно, что подходящая концентрация каждого антибиотика в композиции зависит от таких факторов, как эффективность, стабильность антибиотика, количество различных антибиотиков, состав и способы применения композиции.

Таблица 6. Примеры антибиотиков

Антибиотики	Действие
Пенициллины, цефалоспорины, ванкомицин	Синтез клеточной стенки
Полимиксин, грамицидин	Мембраноактивное средство, разрушает клеточную мембрану
Тетрациклины, макролиды, хлорамфеникол, клиндамицин, спектиномицин	Ингибируют синтез белка
Сульфонамиды	Ингибируют фолат-зависимые пути
Ципрофлоксацин	Ингибируют ДНК-гиразу
Изониазид, рифампицин, пиразинамид, этамбутол (миамбутол), стрептомицин	Антимикобактериальные средства

В. Противогрибковые средства

Композиции для контроля вредителей (например, биопестицидные или биорепеллентные), описанные в данном документе, могут дополнительно включать противогрибковое средство. В некоторых случаях композиции для контроля вредителей (например, биопестицидные или биорепеллентные) включают два или больше (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более 10) различных противогрибковых средств. Например, противогрибковое средство может снижать приспособленность (например, уменьшать рост или уничтожать) гриба, являющегося вредителем растений. Композицию для контроля вредителей (например, биопестицидную или биорепеллентную), включающую противогрибковое средство, которое описано в данном документе, можно привести в контакт с целевым грибом-вредителем или растением, зараженным им, в количестве и в течение времени, достаточных для: (а) достижения целевого уровня (например, предварительно определенного или порогового уровня) концентрации антибиотика внутри целевого гриба или на нем и (б) снижения приспособленности целевого гриба. Противогрибковые средства, описанные в данном документе, могут быть составлены в композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной) для любого из способов, описанных в данном документе, и в определенных случаях могут быть ассоциированы с их РМР.

Используемый в данном документе термин "фунгицид" или "противогрибковое средство" относится к веществу, которое уничтожает или подавляет рост, пролиферацию, деление, размножение или распространение грибов, таких как фитопатогенные грибы. Много различных типов противогрибковых средств производится на коммерческой основе. Неограничивающие примеры противогрибковых средств включают: азоксистробин, манкозеп, протиоконазол, фолпет, тебуконазол, дифеноконазол, каптан, бупиримат или фосетил-А1. Дополнительные иллюстративные фунгициды включают без ограничения стробилурины, азоксистробин, димоксистробин, энестробурин,

флуоксастробин, крезоксим-метил, метоминостробин, пикоксистробин, пираклостробин, трифлуксистробин, оризастробин, карбоксамиды, карбоксанилиды, беналаксил, беналаксил-М, беноданил, карбоксин, мебенил, мепронил, фенфурам, фенгексамид, флутоланил, фуралаксил, фуркарбанил, фураметпир, металаксил, металаксил-М (мефеноксам), метфуроксам, метсульфовакс, офураце, оксадиксил, оксикарбоксин, пентиопирад, пиракарболид, салициланилид, теклофталам, тифлузамид, тиадинил, N-бифениламида, биксафен, боскалид, морфолиды карбоновых кислот, диметоморф, флуморф, бензамиды, флуметовер, флупиколоид (пикобензамид), зоксамид, карбоксамида, карпропамид, диклоцимет, мандипропамид, силтиофам, азолы, триазолы, битертанол, бромуконазол, ципроконазол, дифеноконазол, диниконазол, энилконазол, эпоксиконазол, фенбуконазол, флузилазол, флухинконазол, флутриафол, гексаконазол, имибенконазол, ипконазол, метконазол, миклобутанил, пенконазол, пропиконазол, протиоконазол, симеконазол, тебуконазол, тетраконазол, триадименол, триадимефон, тритиконазол, имидазолы, циазофамид, имазалил, пефуразоат, прохлораз, трифлумизол, бензимидазолы, беномил, карбендазим, фуберидазол, тиабендазол, этабоксам, этридиазол, гимексазол, азотсодержащие гетероциклические соединения, пиридины, фуазилам, пирифенокс, пиримидины, бупиримат, ципродинил, феримзон, фенаримол, мепанипирим, нуаримол, пириметанил, пиперазины, трифорин, пирролы, флудиоксонил, фенпиклонил, морфолины, альдиморф, додеморф, фенпропиморф, тридеморф, дикарбоксимида, ипродион, процимидон, винклозолин, ацибензолар-S-метил, анилазин, каптан, каптафол, дазомет, дикломезин, феноксанил, фолпет, фенпропидин, фамоксадон, фенамидон, октилинон, пробеназол, проквиназид, пироквилон, хиноксифен, трициклазол, карбаматы, дитиокарбаматы, фербам, манкозеп, манеб, метирам, метам, пропинеб, тирам, цинеб, зирам, диетофенкарб, флубентиаваликарб, ипроваликарб, пропамокарб, гуанидины, додин, иминоктадин, гуазатин, касугамицин, полиоксины, стрептомицин, валидамицин А, металлоорганические соединения, соли фентина, серосодержащие гетероциклические соединения, изопропиолан, дитианон, фосфорорганические соединения, эдифосфенфос, фосетил, фосетил-алюминий, ипробенфос, пиразофос, толклофос-метил, хлорорганические соединения, тиофанат-метил, хлороталонил, дихлофлуанид, толилфлуанид, флусульфамид, фталид, гексахлорбензол, пенцикурон, хинтозен, нитрофенильные производные, бинапакрил, динокап, динобутон, спирокамин, цифлуфенамид, цимоксанил, метрафенон, N-2-цианофенил-3,4-дихлоризотиазол-5-карбоксамид (изотианил), N-(3',4',5'-трифторбифенил-2-ил)-3-дифторметил-1-метилпиразол-4-карбоксамид, 3-[5-(4-хлорфенил)-2,3-диметилизоксазолидин-3-ил]пиридин, N-(3',4'-дихлор-4-фторбифенил-2-ил)-3-дифторметил-1-метилпиразол-е-4-карбоксамид, 5-хлор-7-(4-метилпиперидин-1-ил)-6-(2,4,6-трифторфенил)-[1,2,4]триазоло[1,5-а]пиримидин, 2-бутоксид-6-йод-3-пропилхромен-4-он, N, N-диметил-3-(3-бром-6-фтор-2-метилиндол-1-сульфонил)-[1,2,4]триазол-1-сульфонамид, метил-(2-хлор-5-[1-(6-метилпиридин-2-илметокси-имино)этил]бензил)карбамат, метил-(2-хлор-5-[1-(6-метилпиридин-2-илметокси-имино)этил]бензил)карбамат, метил-3-(4-хлорфенил)-3-(2-

изопропоксикарбониламино-3-метилбутириламино)пропионат, 4-фторфенил-N-(1-(1-(4-цианофенил)этансульфонил)бут-2-ил)карбамат, N-(2-(4-[3-(4-хлорфенил)проп-2-инилокси]-3-метоксифенил)этил)-2-метанесульфоиламино-3-метилбутирамид, N-(2-(4-[3-(4-хлорфенил)проп-2-инилокси]-3-метоксифенил)этил)-2-этансульфоиламино-3-метилбутирамид, N-(4'-бромбифенил-2-ил)-4-дифторметил-2-метилтиазол-5-карбоксамид, N-(4'-трифторметилбифенил-2-ил)-4-дифторметил-2-метилтиазол-5-карбоксамид, N-(4'-хлор-3'-фторбифенил-2-ил)-4-дифторметил-2-метилтиазол-5-карбоксамид или метил-2-(орто-((2,5-диметилфенилоксиметил)фенил)-3-метоксиакрилат. Специалисту в данной области будет понятно, что подходящая концентрация каждого противогрибкового средства в композиции зависит от таких факторов, как эффективность, стабильность противогрибкового средства, количество различных противогрибковых средств, состав и способы применения композиции.

С. Инсектициды

Композиции для контроля вредителей (например, биопестицидные или биорепеллентные), описанные в данном документе, могут дополнительно включать инсектицид. В некоторых случаях композиции для контроля вредителей (например, биопестицидные или биорепеллентные) включают два или больше (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более 10) различных инсектицидных средств. Например, инсектицид может снижать приспособленность (например, уменьшать рост или уничтожать) насекомого, являющегося вредителем растений. Композицию для контроля вредителей (например, биопестицидную или биорепеллентную), включающую инсектицид, который описан в данном документе, можно привести в контакт с целевым насекомым-вредителем или растением, зараженным им, в количестве и в течение времени, достаточных для: (а) достижения целевого уровня (например, предварительно определенного или порогового уровня) концентрации инсектицида внутри целевого насекомого или на нем и (б) снижения приспособленности целевого насекомого. Инсектициды, описанные в данном документе, могут быть составлены в композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной) для любого из способов, описанных в данном документе, и в определенных случаях могут быть ассоциированы с их РМР.

Используемый в данном документе термин "инсектицид" или "инсектицидное средство" относится к веществу, которое уничтожает или подавляет рост, пролиферацию, размножение или распространение насекомых, таких как сельскохозяйственные насекомые-вредители. Неограничивающие примеры инсектицидов приведены в таблице 7. Дополнительные неограничивающие примеры подходящих инсектицидов включают биологические препараты, гормоны или феромоны, такие как азадирахтин, виды *Bacillus*, виды *Beauveria*, кодлемон, виды *Metarrhizium*, виды *Paecilomyces*, *thuringiensis* и виды *Verticillium*, а также активные соединения с неизвестными или неуказанными механизмами действия, такие как фумиганты (такие как фосфид алюминия, бромистый метил и сульфурилфторид) и селективные ингибиторы питания (такие как криолит, флониламид и пиметрозин). Специалисту в данной области будет понятно, что

подходящая концентрация каждого инсектицида в композиции зависит от таких факторов, как эффективность, стабильность инсектицида, количество различных инсектицидов, состав и способы применения композиции.

Таблица 7. Примеры инсектицидов

Класс	Соединения
хлорникотинилы/неоникотиноиды	ацетамиприд, клотианидин, динотефуран, имидаклоприд, нитенпирам, нитиазин, тиаклоприд, тиаметоксам, имидаклотиз, (2E)-1-[(2-хлор-1,3-тиазол-5-ил)метил]-3,5-диметил-N-нитро-1,3,5-триазинан-2-имин, ингибиторы ацетилхолинэстеразы (AChE) (такие как карбаматы и фосфорорганические соединения)
карбаматы	аланикарб, алдикарб, альдоксикарб, алликсикарб, аминокарб, бендиокарб, бенфуракарб, буфенкарб, бутакарб, бутоксикарб, бутоксикарб, карбарил, карбофуран, карбосульфат, хлорэтоксикарб, диметилан, этиофенкарб, фенобукарб, фенотиокарб, форметанат, фуратиокарб, изопрокарб, метамнатрий, метиокарб, метомил, метолкарб, оксамил, фосфокарб, пиримикарб, промекарб, пропоксур, тиодикарб, тиофанокс, триазамат, триметакарб, ХМС, ксиликарб
фосфорорганические соединения	ацефат, азаметифос, азинфос (-метил, -этил), бромфос-этил, бромфенвинфос (-метил), бутиофос, кадусафос, карбофенотион, хлорэтоксифос, хлорфенвинфос, хлормефос, хлорпирифос (-метил/-этил), кумафос, цианофенфос, цианофос, деметон-S-метил, деметон-S-метилсульфон, диалифос, диазинон, дихлофентион, дихлорвос/ DDVP, дикротофос, диметоат, диметилвинфос, диоксабензофос, дисульфотон, EPN, этион, этопрофос, этримфос, фамфур, фенамифос, фенитротион, фенсульфотион, фентион, флупиразофос, фонофос, формотион, фосметилан, фостиазат, гептенофос, йодофенфос, ипробенфос,

	<p>изазофос, изофенфос, изопропил-О-салицилат, изоксатион, малатион, мекарбам, метакрифос, метамидофос, метидатион, мевинфос, монокротофос, налед, ометоат, оксидеметон-метил, паратион (-метил/-этил), фентоат, форат, фозалон, фосмет, фосфамидон, фосфокарб, фоксим, пиримифос (-метил/-этил), профенофос, пропафос, пропетамфос, протиофос, протоат, пираклофос, пиридафентион, пиридатион, хинальфос, себуфос, сульфотеп, сульфофос, тебупиримфос, темефос, тербуфос, тетрахлорвинфос, тиометон, триазофос, трихлорфон, ванидотион</p>
пиретроиды	<p>акринатрин, аллетрин (d-цис-транс, d-транс), циперметрин (альфа-, бета-, тета-, зета-), перметрин (цис-, транс-), бета-цифлутрин, бифентрин, биоаллетрин, биоаллетрин-S-циклопентил-изомер, биоэтанометрин, биоперметрин, биоресметрин, хловапортрин, цис-циперметрин, цис-ресметрин, цис-перметрин, клоцитрин, циклопротрин, цифлутрин, цигалотрин, цифенотрин, DDT, дельтаметрин, эмпентрин (1R-изомер), эсфенвалерат, этофенпрокс, фенфлутрин, фенпропатрин, фенпиритрин, фенвалерат, флуброцитринат, флуцитринат, флуфенпрокс, флуметрин, флувалинат, фубфенпрокс, гамма-цигалотрин, имипротрин, кадетрин, лямбда, цигалотрин, метофлутрин, фенотрин (1R-транс-изомер), праллетрин, профлутрин, протрифенбут, пиресметрин, ресметрин, RU 15525, силафлуофен, тау-флувалинат, тефлутрин, тераллетрин, тетраметрин (1R-изомер), тралоцитрин, тралометрин, трансфлутрин, ZXI 8901, пиретрины (пиретрум)</p>
оксадиазины	<p>индоксакарб, модуляторы рецепторов ацетилхолина (такие как спинозины)</p>

спинозины	спиносад
циклодиен	камфехлор, хлордан, эндосульфат, гамма-НСН, НСН, гептахлор
хлорорганические соединения	линдан, метоксихлор
фипролы	ацетопрол, этипрол, ванилипрол, фипронил
мектины	абамектин, авермектин, эмамектин, эмамектин-бензоат, феноксикарб, гидропрен, кинопрен, метопрен, ивермектин, лепимектин, эпофенонан, пирипроксифен, милбемектин, милбемицин, трипрен
диацилгидразины	хромафенозид, галофенозид, метоксифенозид, тебуфенозид
различные виды бензоилмочевины	бистрифлуорон, хлорфлуазурон, дифлубензурон, флуазурон, флуциклоксурон, флуфеноксурон, гексафлумурон, луфенурон, новалурон, новифлумурон, пенфлуорон, тефлубензурон, трифлумурон
оловоорганические соединения	азоциклотин, цигексатин, оксид фенбутатина
пирролы	хлорфенапир
динитрофенолы	бинапацирл, динобутон, динокап, DNOC
МЕТІ	феназахин, фенпироксимат, пиримидифен, пиридабен, тебуфенпирад, толфенпирад, ротенон, ацехиноцил, флакрипирим, микробные разрушители кишечной мембраны насекомых (такие как штаммы <i>Bacillus thuringiensis</i>), ингибиторы синтеза липидов (такие как тетрановые кислоты и тетрамовые кислоты)
тетрановые кислоты	спиродиклофен, спиромезифен, спиротетрамат
тетрамовые кислоты	цис-3-(2,5-диметилфенил)-8-метокси-2-оксо-1-азаспиро[4.5]дец-3-ен-4-илэтилкарбонат (условное название: угольная кислота, 3-(2,5-диметилфенил)-8-метокси-2-оксо-1-азаспиро[4.5]дец-3-ен-4-ила сложный этиловый эфир; рег. номер в CAS: 382608-10-8), карбоксамиды (такие как флониламид),

	октопаминергические агонисты (такие как амитраз), ингибиторы АТФазы, стимулируемой магнием (такие как пропаргит), агонисты рецепторов рианодина (такие как фталамиды или ринаксапир)
фталамиды	N2-[1,1-диметил-2-(метилсульфонил)этил]-3-иод-N1-[2-метил-4-[1,2,2,2-тетрафтор-1-(трифторметил)этил]фенил]-1,2-бензолдикарбоксамид (т. е. флубендиамид; рег. № в CAS: 272451-65-7)

D. Нематоциды

Композиции для контроля вредителей (например, биопестицидные или биорепеллентные), описанные в данном документе, могут дополнительно включать нематоцид. В некоторых случаях композиции для контроля вредителей (например, биопестицидные или биорепеллентные) включают два или больше (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более 10) различных нематоцидов. Например, нематоцид может снижать приспособленность (например, уменьшать рост или уничтожать) нематоды, являющейся вредителем растений. Композицию для контроля вредителей (например, биопестицидную или биорепеллентную), включающую нематоцид, который описан в данном документе, можно привести в контакт с целевой нематодой-вредителем или растением, зараженным им, в количестве и в течение времени, достаточных для: (а) достижения целевого уровня (например, предварительно определенного или порогового уровня) концентрации нематоцида внутри целевой нематоды или на ней и (b) снижения приспособленности целевой нематоды. Нематоциды, описанные в данном документе, могут быть составлены в композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной) для любого из способов, описанных в данном документе, и в определенных случаях могут быть ассоциированы с их РМР.

Используемый в данном документе термин "нематоцид" или "нематоцидное средство" относится к веществу, которое уничтожает или подавляет рост, пролиферацию, размножение или распространение насекомых, таких как сельскохозяйственные нематоды-вредители. Неограничивающие примеры нематоцидов приведены в таблице 8. Специалисту в данной области будет понятно, что подходящая концентрация каждого нематоцида в композиции зависит от таких факторов, как эффективность, стабильность нематоцида, количество различных нематоцидов, состав и способы применения композиции.

Таблица 8. Примеры нематоцидов

ФУМИГАНТЫ	D-D, 1,3-дихлорпропен, дибромид этилена, 1,2-дибром-3-хлорпропан, метилбромид, хлорпикрин, метамнатрий, дазамет, метилизотиоцианат (МИТС), тетрадиокарбонат натрия, хлорпикрин
КАРБАМАТЫ	Алдикарб, альдоксикарб, карбофуран, оксамил, клеотокарб
ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ	Этопрофос, фенамифос, кадусафос, фостиазат, фенсульфотион, тионазин, исазофос
БИОХИМИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ	DITERA®, CLANDOSAN®, SINCOCIN®

Е. Моллюскоциды

Композиции для контроля вредителей (например, биопестицидные или биорепеллентные), описанные в данном документе, могут дополнительно включать моллюскоцид. В некоторых случаях композиции для контроля вредителей (например, биопестицидные или биорепеллентные) включают два или больше (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более 10) различных моллюскоцидов. Например, моллюскоцид может снижать приспособленность (например, уменьшать рост или уничтожать) моллюска, являющегося вредителем растений. Композицию для контроля вредителей (например, биопестицидную или биорепеллентную), включающую моллюскоцид, который описан в данном документе, можно привести в контакт с целевым моллюском-вредителем или растением, зараженным им, в количестве и в течение времени, достаточных для: (а) достижения целевого уровня (например, предварительно определенного или порогового уровня) концентрации моллюскоцида внутри целевого моллюска или на нем и (б) снижения приспособленности целевого моллюска. Моллюскоциды, описанные в данном документе, могут быть составлены в композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной) для любого из способов, описанных в данном документе, и в определенных случаях могут быть ассоциированы с их РМР.

Используемый в данном документе термин "моллюскоцид" или "моллюскоцидное средство" относится к веществу, которое уничтожает или подавляет рост, пролиферацию, размножение или распространение моллюсков, таких как сельскохозяйственные моллюски-вредители. В качестве моллюскоцида можно использовать ряд химических веществ, в том числе соли металлов, такие как фосфат железа (III), сульфат алюминия и EDTA натрия (железа), [3][4], метальдегид, метиокарб или ингибиторы ацетилхолинэстеразы. Специалисту в данной области будет понятно, что подходящая концентрация каждого моллюскоцида в композиции зависит от таких факторов, как эффективность, стабильность моллюскоцида, количество различных моллюскоцидов, состав и способы применения композиции.

Г. Вируциды

Композиции для контроля вредителей (например, биопестицидные или биорепеллентные), описанные в данном документе, могут дополнительно содержать вируцид. В некоторых случаях композиции для контроля вредителей (например, биопестицидные или биорепеллентные) содержат два или больше (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более 10) различных вируцидов. Например, вируцид может снижать приспособленность (например, уменьшать или устранять) вирусного патогена растений. Композицию для контроля вредителей (например, биопестицидную или биорепеллентную), содержащую вируцид, как описано в данном документе, можно привести в контакт с целевым вирусом или растением, зараженным им, в количестве и в течение времени, достаточных для: (а) достижения целевого уровня (например, предварительно определенного или порогового уровня) концентрации вируцида и (б) уменьшения или устранения целевого вируса. Вируциды, описанные в данном документе, могут быть составлены в композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной) для любого из способов, описанных в данном документе, и в определенных случаях могут быть ассоциированы с их РМР.

Используемый в данном документе термин "вируцид" или "противовирусное средство" относится к веществу, которое уничтожает или подавляет рост, пролиферацию, размножение, развитие или распространение вирусов, таких как сельскохозяйственные вирусные патогены. В качестве вируцида можно использовать ряд средств, в том числе химические или биологические средства (например, нуклеиновые кислоты, например, dsRNA). Специалисту в данной области техники будет понятно, что подходящая концентрация каждого вируцида в композиции зависит от таких факторов, как эффективность, стабильность вируцида, количество различных вируцидов, состав и способы применения композиции.

G. Гербициды

Композиции для контроля вредителей (например, биопестицидные или биорепеллентные), описанные в данном документе, могут дополнительно содержать два или больше (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более 10) различных гербицидов. Например, гербицид может снижать приспособленность (например, уменьшать или устранять) сорняка. Композицию для контроля вредителей (например, биопестицидную или биорепеллентную), содержащую гербицид, как описано в данном документе, можно привести в контакт с целевым сорняком в количестве и в течение времени, достаточных для: (а) достижения целевого уровня (например, предварительно определенного или порогового уровня) концентрации гербицида на растении и (б) снижения приспособленности сорняка. Гербициды, описанные в данном документе, могут быть составлены в композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной) для любого из способов, описанных в данном документе, и в определенных случаях могут быть ассоциированы с их РМР.

Используемый в данном документе термин "гербицид" относится к веществу, которое уничтожает или подавляет рост, пролиферацию, размножение или

распространение сорняков. В качестве гербицидов можно использовать ряд химических веществ, в том числе глюфосинат, пропаквизафоп, метамитрон, метазахлор, пендиметалин, флуфенацет, дифлуфеникан, кломазон, никосульфурон, мезотрион, пиноксаден, сулькотрион, просульфокарб, сульфентразон, бифенокс, хинмерак, триаллат, тербутилазин, атразин, оксифлуорфен, диурон, трифлуралин или хлоротолурон. Дополнительные примеры гербицидов включают без ограничения гербициды на основе бензойной кислоты, такие как сложные эфиры дикамбы, гербициды на основе феноксиалкановой кислоты, такие как сложные эфиры 2,4-D, MCPA и 2,4-DB, гербициды на основе арилоксифеноксипропионовой кислоты, такие как сложные эфиры клодинафопа, цихалофопа, феноксапропа, флуазифопа, галоксифопа и хизалофопа, гербициды на основе пиридинкарбоновой кислоты, такие как сложные эфиры аминопиралида, пиклорама и клопиралида, гербициды на основе пиримидинкарбоновой кислоты, такие как сложные эфиры аминоциклопирахлора, гербициды на основе пиридилоксиалкановой кислоты, такие как сложные эфиры фтороксипира и триклопира, и гербициды на основе гидроксibenзонитрила, такие как сложные эфиры бромоксинила и иоксинила, сложные эфиры арилпиридинкарбоновых кислот и арилпиримидинкарбоновые кислоты с общими структурами, описанными в патенте США № 7314849, патенте США № 7300907 и патенте США № 7642220, каждый из которых включен в данный документ посредством ссылки в полном объеме. В определенных вариантах осуществления гербицид может быть выбран из группы, состоящей из 2,4-D, 2,4-DB, ацетохлора, ацифлуорфена, алахлора, аметрина, амитрола, асулама, атразина, азафенидина, бенефина, бенсульфурана, бенсулида, бентазона, бромацила, бромоксинила, бутилата, карфентразона, хлорамбена, хлоримурана, хлорпроама, хлорсульфурана, клетодима, кломазона, клопиралида, клорансулама, цианазина, циклоата, DCPA, десмедифама, дихлобенила, диклофопа, диклосулама, дизатила, дифензоквата, дифлуфензопира, диметенамида-п, диквата, диурана, DSMA, эндоталла, EPTC, эталфлуралина, этаметсульфурана, этофумесата, феноксапропа, флуазифопа-Р, флукарбазона, флуфенацета, флуметсулама, флумиклорака, флумиоксазина, флуометурона, флуороксипира, флутиацета, фомесафена, форамсульфурана, глюфосината, глифосата, галосульфурона, галоксифопа, гексазинона, имазаметабактофенза, имазамокса, имазапика, имазахина, имазетапира, изоксабена, изоксафлутола, лактофена, линурана, MCPA, MCPB, мезотриона, метазола, метолахлора-s, метрибузина, метсульфурана, молината, MSMA, напропамида, напталама, никосульфурона, норфлуразона, оризалина, оксадиазона, оксасульфурона, оксифлуорфена, параквата, пебулата, пеларгоновой кислоты, пендиметалина, фенмедифама, пиклорама, примисульфурона, продиамина, прометрина, пронамида, пропахлора, пропанила, просульфурона, пиразона, пиридата, пиритиобака, хинклорака, хизалофопа, римсульфурана, сетоксидима, сидурана, симазина, сульфентразона, сульфометурона, сульфосульфурона, тебутиурана, тербацила, тиазопира, тифенсульфурана, тиобенкарба, тралкоксидима, триаллата, триасульфурона, трибенурана, триклопира, трифлуралина, трифлусульфурона, вернолата. В некоторых примерах

гербицид представляет собой доксорубин. Специалисту в данной области техники будет понятно, что подходящая концентрация каждого гербицида в композиции зависит от таких факторов, как эффективность, стабильность гербицида, количество различных гербицидов, состав и способы применения композиции.

Н. Репелленты

Композиции для контроля вредителей (например, биопестицидные или биорепеллентные), описанные в данном документе, могут дополнительно содержать репеллент. В некоторых случаях композиции для контроля вредителей (например, биопестицидные или биорепеллентные) содержат два или больше (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более 10) различных репеллентов. Например, репеллент может отпугивать любого из вредителей, описанных в данном документе (например, насекомых, нематод или моллюсков); микроорганизмы (например, фитопатогены или эндофиты, такие как бактерии, грибы или вирусы) или сорняки. Композицию для контроля вредителей (например, биопестицидную или биорепеллентную), содержащую репеллент, как описано в данном документе, можно привести в контакт с целевым растением или растением, зараженным им, в количестве и в течение времени, достаточных для: (а) достижения целевого уровня (например, предварительно определенного или порогового уровня) концентрации репеллента и (b) снижения уровней вредителя на растении по сравнению с необработанным растением. Репеллент, описанный в данном документе, может быть составлен в композиции для контроля вредителей для любого из способов, описанных в данном документе, и в определенных случаях может быть ассоциирован с их РМР.

В некоторых случаях репеллент представляет собой репеллент от насекомых. Некоторые примеры хорошо известных репеллентов от насекомых включают бензил; бензилбензоат; 2,3,4,5-бис(бутил-2-ен)тетрагидрофурурол (репеллент 11 MGK); бутоксиполипропиленгликоль; N-бутилацетанилид; нормальный-бутил-6,6-диметил-5,6-дигидро-1,4-пирон-2-карбоксилат (индалон); дибутиладипат; дибутилфталат; ди-нормальный-бутилсукцинат (табатрекс); N, N-диэтилметатолауамид (DEET); диметилкарбат(эндо, эндо)диметилбицикло[2.2.1]гепт-5-ен-2,3-дикарбоксилат); диметилфталат; 2-этил-2-бутил-1,3-пропандиол; 2-этил-1,3-гександиол (Rutgers 612); ди-нормальный-пропилизонинхомеронат (репеллент 326 MGK); 2-фенилциклогексанол; п-метан-3,8-диол и нормальный-пропил-N, N-диэтилсукцинамат. Другие репелленты включают масло цитронеллы, диметилфталат, оксалат нормальный-бутилмезитилоксида и 2-этилгександиол-1,3 (см. Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, 2nd Ed., Vol. 11: 724-728; and The Condensed Chemical Dictionary, 8th Ed., p 756).

Репеллент от насекомых может представлять собой синтетический или несинтетический репеллент. Примеры синтетических репеллентов от насекомых включают метилантранилат и другие репелленты на основе антранилата, бензальдегид, DEET (N, N-диэтил-м-толуамид), диметилкарбат, диметилфталат, икариндин (например, пикаридин, Waugerel и KBR 3023), индалон (например, используемый в смеси "6-2-2" (60% диметилфталата, 20% индалона, 20% этилгександиола), IR3535 (3-[N-бутил-N-ацетил]-

аминопропионовой кислоты сложный этиловый эфир), метофлутрин, перметрин, SS220 или трициклодеценилаллиловый эфир. Примеры природных репеллентов от насекомых включают листья красивоплодни (Callicarpa), кору березы, болотный мирт (*Myrca Gale*), масло кошачьей мяты (например, непеталактон), масло цитронеллы, эфирное масло лимонного эвкалипта (*Corymbia citriodora*; например, п-ментан-3,8-диол (PMD)), масло нима, лемонграсс, масло чайного дерева, полученное из листьев *Melaleuca alternifolia*, табак или их экстракты.

I. Биологические средства

i. Полипептиды

Композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная) (например, РМР), описанная в данном документе, может содержать полипептид, например полипептид, который является противобактериальным, противогрибковым, инсектицидным, нематицидным, моллюскицидным, вируцидным или гербицидным средством. В некоторых случаях композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная), описанная в данном документе, содержит полипептид или его функциональные фрагменты или производное, которые целенаправленно воздействуют на биохимические пути в организме вредителя. Например, полипептид может снизить приспособленность вредителя растений. Композицию для контроля вредителей (например, биопестицидную или биорепеллентную), содержащую полипептид, как описано в данном документе, можно привести в контакт с целевым вредителем или растением, зараженным им, в количестве и в течение времени, достаточных для: (а) достижения целевого уровня (например, предварительно определенного или порогового уровня) концентрации полипептида и (б) уменьшения или устранения целевого вредителя. Полипептиды, описанные в данном документе, могут быть составлены в композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной) для любого из способов, описанных в данном документе, и в определенных случаях могут быть ассоциированы с их РМР.

Примеры полипептидов, которые могут быть использованы в данном документе, могут включать фермент (например, метаболическую рекомбиназу, геликазу, интегразу, РНКазу, ДНКазу или белок убиквитинирования), порообразующий белок, сигнальный лиганд, проникающий в клетку пептид, фактор транскрипции, рецептор, антитело, нанотело, белок для редактирования генов (например, система CRISPR-Cas, TALEN или цинковый палец), рибопроtein, белковый аптамер или шаперон.

Полипептиды, включенные в данный документ, могут включать в себя встречающиеся в природе полипептиды или рекомбинантно получаемые варианты. В некоторых случаях полипептид может представлять собой его функциональные фрагменты или варианты (например, его ферментативно активный фрагмент или вариант). Например, полипептид может представлять собой функционально активный вариант любого из полипептидов, описанных в данном документе, характеризующийся по меньшей мере 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%,

84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, или 99% идентичностью, например в пределах определенной области или в пределах всей последовательности, с последовательностью полипептида, описанного в данном документе, или встречающегося в природе полипептида. В некоторых случаях полипептид может характеризоваться по меньшей мере 50% (например, по меньшей мере 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 97%, 99%, или более высокой) идентичностью с белком, представляющим интерес.

Полипептиды, описанные в данном документе, могут быть составлены в виде композиции для любого из путей применения, описанных в данном документе. Композиции, раскрытые в данном документе, могут включать в себя любое число или тип (например, классы) полипептидов, как например по меньшей мере приблизительно любое количество из 1 полипептида, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20 или более полипептидов. Подходящая концентрация каждого полипептида в композиции зависит от таких факторов, как эффективность, стабильность полипептида, количество различных полипептидов в композиции, состав и способы применения композиции. В некоторых случаях концентрация каждого полипептида в жидкой композиции составляет от приблизительно 0,1 нг/мл до приблизительно 100 мг/мл. В некоторых случаях концентрация каждого полипептида в твердой композиции составляет от приблизительно 0,1 нг/г до приблизительно 100 мг/г.

Способы получения полипептида являются стандартными в данной области техники. См., в целом, Smales & James (Eds.), *Therapeutic Proteins: Methods and Protocols* (Methods in Molecular Biology), Humana Press (2005); and Crommelin, Sindelar & Meibohm (Eds.), *Pharmaceutical Biotechnology: Fundamentals and Applications*, Springer (2013).

Способы получения полипептида предусматривают экспрессию в клетках растений, хотя рекомбинантные белки также могут продуцироваться с помощью клеток насекомых, дрожжей, бактерий, клеток млекопитающих или других клеток под контролем соответствующих промоторов. Векторы экспрессии млекопитающих могут содержать нетранскрибируемые элементы, такие как точка начала репликации, подходящий промотор и энхансер, и другие 5'- или 3'-фланкирующие нетранскрибируемые последовательности, и 5'- или 3'-нетранслируемые последовательности, такие как необходимые участки связывания рибосомы, сайт полиаденилирования, донорный сайт сплайсинга, акцепторный сайт сплайсинга и последовательности терминации. Последовательности ДНК, происходящие из генома вируса SV40, к примеру, точки начала репликации, раннего промотора, энхансера, сайтов сплайсинга и сайтов полиаденилирования SV40, можно применять для обеспечения других генетических элементов, требуемых для экспрессии гетерологичной последовательности ДНК. Подходящие векторы клонирования и экспрессии для применения с клетками-хозяевами бактерий, грибов, дрожжей и млекопитающих описаны в Green & Sambrook, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (Fourth Edition), Cold Spring Harbor Laboratory Press (2012).

Различные системы культивирования клеток млекопитающих можно применять

для экспрессии и изготовления средства на основе рекомбинантного полипептида. Примеры систем экспрессии млекопитающих включают клетки CHO, клетки COS, клеточные линии HeLA и ВНК. Способы культивирования клеток-хозяев для получения терапевтических средств на основе белка описаны, например, в Zhou and Kantardjieff (Eds.), *Mammalian Cell Cultures for Biologics Manufacturing (Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology)*, Springer (2014). Очистка белков описана в Franks, *Protein Biotechnology: Isolation, Characterization, and Stabilization*, Humana Press (2013); и в Cutler, *Protein Purification Protocols (Methods in Molecular Biology)*, Humana Press (2010). Составление терапевтических средств на основе белка описано в Meyer (Ed.), *Therapeutic Protein Drug Products: Practical Approaches to formulation in the Laboratory, Manufacturing, and the Clinic*, Woodhead Publishing Series (2012).

В некоторых случаях композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная) содержит антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. К примеру, средство, описанное в данном документе, может представлять собой антитело, которое блокирует или усиливает активность и/или функцию компонента вредителя. Антитело может выступать по отношению к вредителю в качестве антагониста или агониста полипептида (например, фермента или клеточного рецептора). Изготовление и применение в отношении вредителя антител к целевому антигену известно в данной области техники. См., например, Zhiqiang An (Ed.), *Therapeutic Monoclonal Antibodies: From Bench to Clinic*, 1st Edition, Wiley, 2009, а также Greenfield (Ed.), *Antibodies: A Laboratory Manual*, 2nd Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2013, в отношении способов получения рекомбинантных антител, в том числе конструирования антител, применения выродженных олигонуклеотидов, 5'-RACE, фагового дисплея и мутагенеза; тестирования и характеристики антител; фармакокинетики и фармакодинамики антител; очистки и хранения антител; и методик скрининга и мечения.

Композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная), описанная в данном документе, может содержать бактериоцин. В некоторых случаях бактериоцин продуцируется естественным образом грамположительными бактериями, такими как *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Bacillus*, *Staphylococcus* или молочнокислые бактерии (LAB, такие как *Lactococcus lactis*). В некоторых случаях бактериоцин продуцируется естественным образом грамотрицательными бактериями, такими как *Hafnia alvei*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia plymthicum*, *Xanthomonas campestris*, *Erwinia carotovora*, *Ralstonia solanacearum* или *Escherichia coli*. Иллюстративные бактериоцины включают без ограничения антибиотики LAB I-IV класса (такие как лантибиотики), колицины, микроцины и пиоцины.

Композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная), описанная в данном документе, может содержать антимикробный пептид (AMP). Можно применять любой AMP, подходящий для подавления микроорганизма. AMP представляют собой разнообразную группу молекул, которые

разделяются на подгруппы на основании их аминокислотного состава и структуры. АМР может быть получен из любого организма или продуцироваться в любом организме, который естественным образом продуцирует АМР, в том числе АМР, получаемые из растений (например, копсин), насекомых (например, мастопаран, понератоксин, цекропин, морицин, меллитин), лягушек (например, магаинин, дермасептин, ауреин) и млекопитающих (например, кателицидины, дефензины и протегрины).

ii. Нуклеиновые кислоты

Многочисленные нуклеиновые кислоты являются пригодными в композициях и способах, описанных в данном документе. Композиции, раскрытые в данном документе, могут содержать любое число или тип (например, классы) нуклеиновых кислот (например, молекулу ДНК или молекулу РНК, например, молекулу mRNA, направляющей РНК (gRNA) или ингибирующей РНК (например, siRNA, shRNA или miRNA) или гибридную молекулу ДНК-РНК), как например по меньшей мере приблизительно 1 класс или вариант нуклеиновой кислоты, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20 или больше классов или вариантов нуклеиновых кислот. Подходящая концентрация каждой нуклеиновой кислоты в композиции зависит от таких факторов, как эффективность, стабильность нуклеиновой кислоты, количество различных нуклеиновых кислот, состав и способы применения композиции. Примеры нуклеиновых кислот, используемых в данном документе, включают малую интерферирующую РНК с субстратом Dicer (dsiRNA), антисмысловую РНК, короткую интерферирующую РНК (siRNA), короткую шпилечную РНК (shRNA), microRNA (miRNA), aiRNA (асимметричную интерферирующую РНК), пептидную нуклеиновую кислоту (PNA), морфолиновую нуклеиновую кислоту, закрытую нуклеиновую кислоту (LNA), piwi-взаимодействующую РНК (piRNA), рибозим, дезоксирибозимы (DNAzyme), аптамер (ДНК, РНК), кольцевую РНК (circRNA), направляющую РНК (gRNA) или молекулу ДНК.

Композицию для контроля вредителей (например, биопестицидную или биорепеллентную), содержащую нуклеиновую кислоту, как описано в данном документе, можно привести в контакт с целевым вредителем или растением, зараженным им, в количестве и в течение времени, достаточных для: (a) достижения целевого уровня (например, предварительно определенного или порогового уровня) концентрации нуклеиновой кислоты и (b) уменьшения или устранения целевого вредителя. Нуклеиновые кислоты, описанные в данном документе, могут быть составлены в композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной) для любого из способов, описанных в данном документе, и в определенных случаях могут быть ассоциированы с их РМР.

(a) Нуклеиновые кислоты, кодирующие полипептид

В некоторых случаях композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная) содержит нуклеиновую кислоту, кодирующую полипептид. Нуклеиновые кислоты, кодирующие полипептид, могут иметь длину от приблизительно 10 до приблизительно 50000 нуклеотидов (нукл.), от приблизительно 25

до приблизительно 100 нукл., от приблизительно 50 до приблизительно 150 нукл., от приблизительно 100 до приблизительно 200 нукл., от приблизительно 150 до приблизительно 250 нукл., от приблизительно 200 до приблизительно 300 нукл., от приблизительно 250 до приблизительно 350 нукл., от приблизительно 300 до приблизительно 500 нукл., от приблизительно 10 до приблизительно 1000 нукл., от приблизительно 50 до приблизительно 1000 нукл., от приблизительно 100 до приблизительно 1000 нукл., от приблизительно 1000 до приблизительно 2000 нукл., от приблизительно 2000 до приблизительно 3000 нукл., от приблизительно 3000 до приблизительно 4000 нукл., от приблизительно 4000 до приблизительно 5000 нукл., от приблизительно 5000 до приблизительно 6000 нукл., от приблизительно 6000 до приблизительно 7000 нукл., от приблизительно 7000 до приблизительно 8000 нукл., от приблизительно 8000 до приблизительно 9000 нукл., от приблизительно 9000 до приблизительно 10000 нукл., от приблизительно 10000 до приблизительно 15000 нукл., от приблизительно 10000 до приблизительно 20000 нукл., от приблизительно 10000 до приблизительно 25000 нукл., от приблизительно 10000 до приблизительно 30000 нукл., от приблизительно 10000 до приблизительно 40000 нукл., от приблизительно 10000 до приблизительно 45000 нукл., от приблизительно 10000 до приблизительно 50000 нукл. или любой диапазон между ними.

Композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная) может также содержать функционально активные варианты последовательности нуклеиновой кислоты, представляющей интерес. В некоторых случаях вариант нуклеиновых кислот характеризуется по меньшей мере 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, или 99% идентичностью, например в пределах определенной области или в пределах всей последовательности, с последовательностью нуклеиновой кислоты, представляющей интерес. В некоторых случаях настоящее изобретение предусматривает функционально активный полипептид, кодируемый вариантом нуклеиновой кислоты, описанным в данном документе. В некоторых случаях функционально активный полипептид, кодируемый вариантом нуклеиновой кислоты, характеризуется по меньшей мере 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, или 99% идентичностью, например в пределах определенной области или в пределах всей последовательности, с последовательностью полипептида, представляющего интерес, или представляющей интерес полипептидной последовательности природного происхождения.

Некоторые способы экспрессии нуклеиновой кислоты, кодирующей белок, могут предусматривать экспрессию в клетках, в том числе клетках насекомых, клетках дрожжевых грибов, клетках бактерий или других клетках под контролем соответствующих промоторов. Векторы экспрессии могут содержать нетранскрибируемые элементы, такие как точка начала репликации, подходящий промотор и энхансер, и другие

5'- или 3'-фланкирующие нетранскрибируемые последовательности, и 5'- или 3'- нетранскрибируемые последовательности, такие как необходимые участки связывания рибосомы, сайт полиаденилирования, донорный сайт сплайсинга, акцепторный сайт сплайсинга и последовательности терминации. Последовательности ДНК, происходящие из генома вируса SV40, к примеру, точки начала репликации, раннего промотора, энхансера, сайтов сплайсинга и сайтов полиаденилирования SV40, можно применять для обеспечения других генетических элементов, требуемых для экспрессии гетерологичной последовательности ДНК. Подходящие векторы клонирования и экспрессии для применения с клетками-хозяевами бактерий, грибов, дрожжей и млекопитающих описаны в Green et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Fourth Edition*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2012.

Генетическая модификация с применением рекомбинантных способов является общеизвестной в данной области техники. Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая необходимый ген, может быть получена с помощью рекомбинантных способов, известных в данной области техники, таких как, к примеру, скрининг библиотек на основе клеток, экспрессирующих ген, путем получения гена из вектора, который, как известно, содержит его, или путем выделения непосредственно из клеток и тканей, содержащих его, с помощью стандартных методик. В альтернативном случае ген, представляющий интерес, может быть получен синтетически, а не клонирован.

Экспрессия природных или синтетических нуклеиновых кислот, как правило, достигается с помощью функционального связывания нуклеиновой кислоты, кодирующей ген, представляющий интерес, с промотором, и включения данной конструкции в вектор экспрессии. Векторы экспрессии могут быть подходящими для репликации и экспрессии в бактериях. Векторы экспрессии также могут быть подходящими для репликации и интеграции в эукариотах. Типичные клонирующие векторы содержат терминаторы транскрипции и трансляции, последовательности инициации и промоторы, пригодные для экспрессии необходимой последовательности нуклеиновой кислоты.

Дополнительные промоторные элементы, например, энхансеры, регулируют частоту инициации транскрипции. Как правило, они расположены в области 30-110 пар оснований (п. о.) выше от сайта начала транскрипции, хотя, как недавно было показано, ряд промоторов также содержит функциональные элементы ниже сайта начала транскрипции. Область между промоторными элементами является гибкой, поэтому промоторная функция сохраняется, когда элементы инвертированы или перемещены друг по отношению к другу. В промоторе тимидинкиназы (tk) область между промоторными элементами может быть увеличена до 50 п. о. до того, как активность начинает снижаться. В зависимости от промотора, по-видимому, отдельные элементы могут функционировать совместно или независимо с целью активации транскрипции.

Одним примером подходящего промотора является последовательность промотора гена немедленно-раннего ответа цитомегаловируса (CMV). Данная промоторная последовательность представляет собой последовательность сильного конститутивного

промотора, способного управлять высокими уровнями экспрессии любой полинуклеотидной последовательности, функционально связанной с ним. Другим примером подходящего промотора является фактор элонгации 1α (EF- 1α). Однако также можно использовать другие последовательности конститутивных промоторов, в том числе без ограничения ранний промотор вируса обезьян 40 (SV40), промотор вируса рака молочной железы мыши (MMTV), промотор длинного концевой повтора (LTR) вируса иммунодефицита человека (HIV), промотор MoMuLV, промотор вируса лейкоза птиц, немедленно-ранний промотор вируса Эпштейна-Барр, промотор вируса саркомы Рауса, а также промоторы генов человека, такие как без ограничения промотор гена актина, промотор гена миозина, промотор гена гемоглобина и промотор гена креатинкиназы.

В альтернативном случае промотор может представлять собой индуцируемый промотор. Применение индуцируемого промотора предоставляет молекулярный переключатель, способный включать экспрессию полинуклеотидной последовательности, с которой он функционально связан, в случае когда такая экспрессия является желательной, или выключение экспрессии, в случае если экспрессия нежелательна. Примеры индуцируемых промоторов включают без ограничения промотор гена металлотионина, промотор гена глюкокортикоидного рецептора, промотор гена прогестеронового рецептора и промотор гена устойчивости к тетрациклину.

Вектор экспрессии, подлежащий введению, также может содержать либо ген селективного маркера, либо репортерный ген, либо и то и другое с целью облегчения идентификации и отбора экспрессирующих клеток из популяции клеток, подлежащих трансфекции или инфицированию посредством вирусных векторов. В других аспектах селективный маркер может быть перенесен на отдельном фрагменте ДНК и применен в процедуре котрансфекции. Как селектируемые маркеры, так и репортерные гены могут быть фланкированы подходящими регуляторными последовательностями с целью обеспечения экспрессии в клетках хозяев. Пригодные селектируемые маркеры включают, к примеру, гены устойчивости к антибиотикам, такие как нео и т. п.

Репортерные гены можно применять для идентификации потенциально трансформированных клеток и для оценки функциональности регуляторных последовательностей. Как правило, репортерный ген представляет собой ген, который не присутствует в источнике реципиента или не кодируется им и который кодирует полипептид, экспрессия которого проявляется с помощью некоторого легко выявляемого свойства, например, ферментативной активности. Экспрессию репортерного гена анализируют в подходящее время после того, как ДНК была введена в клетки-реципиенты. Подходящие репортерные гены могут включать в себя гены, кодирующие люциферазу, бета-галактозидазу, хлорамфениколацетилтрансферазу, секретлируемую щелочную фосфатазу, или ген зеленого флуоресцентного белка (например, Ui-Tei et al., FEBS Letters 479:79-82, 2000). Подходящие системы экспрессии хорошо известны и могут быть получены с помощью известных методик или приобретены коммерческим путем. Как правило, конструкция с минимальной 5'-фланкирующей областью, демонстрирующая

наибольший уровень экспрессии репортерного гена, идентифицируется как промотор. Такие промоторные области могут быть связаны с репортерным геном и использоваться для оценивания средств в отношении способности модулировать транскрипцию, управляемую промотором.

В некоторых случаях организм может быть генетически модифицирован с целью изменения экспрессии одного или нескольких белков. Экспрессия одного или нескольких белков может быть модифицирована в течение определенного времени, например, состояния развития или дифференцировки организма. В одном случае в настоящем изобретении предусмотрена композиция для изменения экспрессии одного или нескольких белков, например, белков, которые влияют на активность, структуру или функцию. Экспрессия одного или нескольких белков может быть ограничена определенным(определенными) положением(положениями) или распространена по всему организму.

(b) Синтетическая mRNA

Композиция для контроля вредителей (биопестицидная или биорепеллентная) может содержать молекулу mRNA, например, синтетическую молекулу mRNA, кодирующую полипептид. Синтетическая молекула mRNA может быть модифицированной, например, химически. Молекула mRNA может быть химически синтезирована или транскрибирована *in vitro*. Молекула mRNA может быть расположена в плазмиде, например, в вирусном векторе, бактериальном векторе или эукариотическом векторе экспрессии. В некоторых примерах молекула mRNA может быть доставлена в клетки с помощью трансфекции, электропорации или трансдукции (например, аденовирусной или лентивирусной трансдукции).

В некоторых случаях средство на основе модифицированной РНК, представляющее интерес, описанное в данном документе, имеет модифицированные нуклеозиды или нуклеотиды. Такие модификации известны и описаны, например, в WO 2012/019168. Дополнительные модификации описаны, например, в WO 2015/038892; WO 2015/038892; WO 2015/089511; WO 2015/196130; WO 2015/196118 и WO 2015/196128 A2.

В некоторых случаях модифицированная РНК, кодирующая полипептид, представляющий интерес, имеет одну или несколько концевых модификаций, например, 5'-кэп-структуру и/или поли-А-хвост (например, от 100 до 200 нуклеотидов в длину). 5'-кэп-структура может быть выбрана из группы, состоящей из Cap0, Cap1, ARCA, инозина, N1-метилгуанозина, 2'-фторгуанозина, 7-дезагуанозина, 8-оксогуанозина, 2-аминогуанозина, LNA-гуанозина и 2-азидогуанозина. В некоторых случаях модифицированные РНК также содержат 5'-UTR, содержащую по меньшей мере одну последовательность Козак, и 3'-UTR. Такие модификации известны и описаны, например, в WO 2012/135805 и WO 2013/052523. Дополнительные концевые модификации описаны, например, в WO 2014/164253 и WO 2016/011306, WO 2012/045075 и WO 2014/093924. Химерные ферменты для синтеза кэпированных молекул РНК (например, модифицированной mRNA), которые могут содержать по меньшей мере одну химическую

модификацию, описаны в WO 2014/028429.

В некоторых случаях модифицированная mRNA может быть циклизированной или конкатемеризованной с целью получения отвечающей требованиям трансляции молекулы для облегчения взаимодействий между поли-А-связывающими белками и 5'-конец-связывающими белками. Механизм циклизации или конкатемеризации может осуществляться посредством по меньшей мере 3 различных путей: 1) химического, 2) ферментативного и 3) катализируемого рибозимами. Вновь образованная 5'-/3'-связь может быть внутримолекулярной или межмолекулярной. Такие модификации описаны, например, в WO 2013/151736.

Способы получения и очистки модифицированных РНК известны и раскрыты в данной области техники. К примеру, модифицированные РНК получают с помощью только ферментативного синтеза с использованием транскрипции *in vitro* (IVT). Способы получения полинуклеотидов IVT известны в данной области техники и описаны в WO 2013/151666, WO 2013/151668, WO 2013/151663, WO 2013/151669, WO 2013/151670, WO 2013/151664, WO 2013/151665, WO 2013/151671, WO 2013/151672, WO 2013/151667 и WO 2013/151736. Способы очистки включают очистку РНК-транскрипта, содержащего поли-А-хвост, путем приведения образца в контакт с поверхностью, связанной со множеством тимидинов или их производных и/или множеством урацилов или их производных (polyT/U) в таких условиях, что РНК-транскрипт связывается с поверхностью, и элюирования очищенного РНК-транскрипта с поверхности (WO 2014/152031); применение ионо- (например, анионо-) обменной хроматографии, которая способствует разделению более длинных молекул РНК вплоть до 10000 нуклеотидов в длину посредством масштабируемого способа (WO 2014/144767); и обработку ДНКазой образца модифицированной mRNA (WO 2014/152030).

Составы на основе модифицированных РНК известны и описаны, например, в WO 2013/090648. К примеру, состав может представлять собой без ограничения наночастицы, микросферы на основе сополимера молочной и гликолевой кислоты (PLGA), липидоиды, липоплекс, липосому, полимеры, углеводы (в том числе простые сахара), катионные липиды, фибриновый гель, фибриновый гидрогель, фибриновый клей, фибриновый герметик, фибриноген, тромбин, быстро элиминируемые липидные наночастицы (reLNP)) и их комбинации.

Модифицированные РНК, кодирующие полипептиды, в областях, связанных с заболеваниями человека, антителами, вирусами, и множества условий *in vivo* известны и раскрыты, к примеру, в таблице 6 международных публикаций №№ WO 2013/151666, WO 2013/151668, WO 2013/151663, WO 2013/151669, WO 2013/151670, WO 2013/151664, WO 2013/151665, WO 2013/151736; таблицах 6 и 7 международной публикации № WO 2013/151672; таблицах 6, 178 и 179 международной публикации № WO 2013/151671; таблицах 6, 185 и 186 международной публикации № WO 2013/151667. Любое из вышеизложенного может быть синтезировано в виде полинуклеотида IVT, химерного полинуклеотида или кольцевого нуклеотида, и каждое может включать один или

несколько модифицированных нуклеотидов или концевых модификаций.

(с) Ингибирующая РНК

В некоторых случаях композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная) содержит молекулу ингибирующей РНК, например, которая действует с помощью пути РНК-интерференции (RNAi). В некоторых случаях молекула ингибирующей РНК снижает уровень экспрессии гена у вредителя и/или снижает уровень белка у вредителя. В некоторых случаях молекула ингибирующей РНК подавляет экспрессию гена вредителя. Например, молекула ингибирующей РНК может включать короткую интерферирующую РНК, короткую шпилечную РНК и/или *microRNA*, которая целенаправленно воздействует на ген у вредителя. Определенные молекулы РНК могут подавлять экспрессию генов путем биологического процесса РНК-интерференции (RNAi). Молекулы для RNAi включают РНК или РНК-подобные структуры, как правило, содержащие 15-50 пар оснований (например, приблизительно 18-25 пар оснований) и имеющие последовательность нуклеиновых оснований, идентичную (комплементарную) или почти идентичную (по сути комплементарную) кодирующей последовательности в экспрессируемом гене-мишени в клетке. Молекулы RNAi включают без ограничения: малые интерферирующие РНК с субстратом Dicer (*dsiRNA*), короткие интерферирующие РНК (*siRNA*), двухнитевые РНК (*dsRNA*), короткие шпилечные РНК (*shRNA*), меродуплексы, субстраты *dicer* и мультивалентные интерферирующие РНК (патенты США №№ 8084599, 8349809, 8513207 и 9200276). *shRNA* представляет собой молекулу РНК, содержащую шпилечный оборот, которая обеспечивает снижение экспрессии генов-мишеней путем RNAi. *shRNA* могут быть доставлены в клетки в виде плазмид, например, вирусных или бактериальных векторов, например, с помощью трансфекции, электропорации или трансдукции). *microRNA* представляет собой некодирующую молекулу РНК, которая, как правило, имеет длину приблизительно 22 нуклеотида. *MiRNA* связываются с целевыми сайтами на молекулах *mRNA* и приводят к сайленсингу *mRNA*, например, вызывая расщепление *mRNA*, дестабилизацию *mRNA* или подавление трансляции *mRNA*. В некоторых случаях молекула ингибирующей РНК снижает уровень и/или активность отрицательного регулятора функции. В других случаях молекула ингибирующей РНК снижает уровень и/или активность ингибитора положительного регулятора функции. Молекула ингибирующей РНК может быть химически синтезирована или транскрибирована *in vitro*.

В некоторых случаях нуклеиновая кислота представляет собой ДНК, РНК или РНА. В некоторых случаях РНК представляет собой ингибирующую РНК. В некоторых случаях ингибирующая РНК подавляет экспрессию генов у вредителя растений. В некоторых случаях нуклеиновая кислота представляет собой *mRNA*, модифицированную *mRNA* или молекулу ДНК, которая повышает экспрессию у вредителя фермента (например, метаболической рекомбиназы, геликазы, интегразы, РНКазы, ДНКазы или белка убиквитинирования), порообразующего белка, сигнального лиганда, проникающего в клетку пептида, фактора транскрипции, рецептора, антитела, нанотела, белка для

редактирования генов (например, система CRISPR-Cas, TALEN или цинковый палец), рибопротеина, белкового аптамера или шаперона. В некоторых случаях нуклеиновая кислота представляет собой mRNA, модифицированную mRNA или молекулу ДНК, которая повышает экспрессию фермента (например, метаболического фермента, фермента на основе рекомбиназы, фермента на основе геликазы, фермента на основе интегразы, фермента на основе РНКазы, фермента на основе ДНКазы или белка убиквитинирования), порообразующего белка, сигнального лиганда, клеточного проникающего пептида, фактора транскрипции, рецептора, антитела, нанотела, белка для редактирования генов (например, система CRISPR-Cas, TALEN или цинковый палец), рибопротеина, белкового аптамера или шаперона. В некоторых случаях повышение экспрессии у вредителя представляет собой повышение экспрессии на приблизительно 5%, 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% или более 100% по сравнению с референтным уровнем (например, экспрессией у необработанного вредителя). В некоторых случаях повышение экспрессии у вредителя представляет собой повышение экспрессии приблизительно в 2 раза, приблизительно в 4 раза, приблизительно в 5 раз, приблизительно в 10 раз, приблизительно в 20 раз, приблизительно в 25 раз, приблизительно в 50 раз, приблизительно в 75 раз или приблизительно в 100 раз или больше по сравнению с референтным уровнем (например, экспрессией у необработанного вредителя).

В некоторых случаях нуклеиновая кислота представляет собой антисмысловую РНК, dsRNA, siRNA, shRNA, miRNA, aiRNA, PNA, морфолиновую нуклеиновую кислоту, LNA, piRNA, рибозим, ДНКзим, аптамер (ДНК, РНК), circRNA, gRNA или молекулу ДНК (например, антисмысловой полинуклеотид), которая действует посредством снижения экспрессии у вредителя, например, фермента (метаболического фермента, фермента, представляющего собой рекомбиназу, фермента, представляющего собой хеликазу, фермента, представляющего собой интегразу, фермента, представляющего собой РНКазу, фермента, представляющего собой ДНКазу, фермента, представляющего собой полимеразу, белка, участвующего в убиквитинировании, фермента, осуществляющего контроль содержания супероксида, или фермента, отвечающего за выработку энергии), транскрипционного фактора, секреторного белка, структурного фактора (актина, кинезина или тубулина), рибопротеина, белкового аптамера, шаперона, рецептора, сигнального лиганда или транспортера. В некоторых случаях снижение экспрессии у вредителя представляет собой снижение экспрессии на приблизительно 5%, 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% или более 100% по сравнению с референтным уровнем (например, экспрессией у необработанного вредителя). В некоторых случаях снижение экспрессии у вредителя представляет собой снижение экспрессии приблизительно в 2 раза, приблизительно в 4 раза, приблизительно в 5 раз, приблизительно в 10 раз, приблизительно в 20 раз, приблизительно в 25 раз, приблизительно в 50 раз, приблизительно в 75 раз или приблизительно в 100 раз или больше по сравнению с референтным уровнем (например, экспрессией у необработанного

вредителя).

Молекулы для RNAi содержат последовательность, по сути комплементарную или полностью комплементарную всему гену-мишени или его фрагменту. Молекулы для RNAi могут комплементарно дополнять последовательности на границе между интронами и экзонами с целью предупреждения созревания вновь образованных ядерных РНК-транскриптов определенных генов в mRNA для транскрипции. Молекулы для RNAi, комплементарные определенным генам, могут гибридизоваться с mRNA для гена-мишени и предупреждать его трансляцию. Антисмысловая молекула может представлять собой ДНК, РНК или их производное или гибрид. Примеры таких производных молекул включают без ограничения пептидную нуклеиновую кислоту (PNA) и фосфотиоатные молекулы, такие как дезоксирибонуклеиновый гуанидин (DNG) или рибонуклеиновый гуанидин (RNG).

Молекулы для RNAi могут быть предусмотрены в виде "готовой к применению" РНК, синтезированной *in vitro*, или в виде антисмыслового гена, трансфицированного в клетки, что приведет к образованию молекул для RNAi при транскрипции. Гибридизация с mRNA приводит к разрушению гибридизированной молекулы РНКазой H и/или подавлению образования трансляционных комплексов. И то и другое приводит к невозможности продуцировать продукт исходного гена.

Длина молекулы для RNAi, которая гибридизуется с транскриптом, представляющим интерес, может составлять около 10 нуклеотидов, от приблизительно 15 до 30 нуклеотидов или приблизительно 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 или больше нуклеотидов. Степень идентичности антисмысловой последовательности с целевым транскриптом может составлять по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95%.

Молекулы для RNAi также могут содержать выступающие концы, т. е., как правило, неспаренные выступающие нуклеотиды, которые непосредственно не вовлечены в двойную спиральную структуру, обычно образуемую парами последовательностями определенной в данном документе пары смысловой и антисмысловой нити. Молекулы для RNAi могут содержать 3'- и/или 5'-выступающие концы из приблизительно 1-5 оснований независимо на каждой из смысловых нитей и антисмысловых нитей. В некоторых случаях как смысловая нить, так и антисмысловая нить содержат 3'- и 5'-выступающие концы. В некоторых случаях один или несколько нуклеотидов 3'-выступающего конца одной нити спариваются основаниями с одним или несколькими нуклеотидами 5'-выступающего конца другой нити. В других случаях один или несколько нуклеотидов 3'-выступающего конца одной нити не спариваются основаниями с одним или несколькими нуклеотидами 5'-выступающего конца другой нити. Смысловая и антисмысловая нити молекулы для RNAi могут содержать или могут не содержать одинаковое количество нуклеотидных оснований. Антисмысловая и смысловая нити могут образовывать дуплекс, при этом только 5'-конец имеет тупой конец, только 3'-конец имеет тупой конец, как 5'-, так и 3'-

концы заканчиваются тупым концом, или ни 5'-, ни 3'-конец не заканчивается тупым концом. В другом случае один или несколько нуклеотидов в выступающем конце содержат тиофосфат, фосфотиоат, дезоксинуклеотидный инвертированный (связанный в направлении от 3' до 3') нуклеотид или представляют собой модифицированный рибонуклеотид или дезоксинуклеотид.

Молекулы малой интерферирующей РНК (siRNA) содержат нуклеотидную последовательность, которая является идентичной участку от приблизительно 15 до приблизительно 25 смежных нуклеотидов целевой mRNA. В некоторых случаях последовательность siRNA начинается динуклеотидом AA, характеризуется содержанием GC приблизительно 30-70% (приблизительно 30-60%, приблизительно 40-60% или приблизительно 45%-55%) и не характеризуется высоким процентом идентичности по отношению к любой нуклеотидной последовательности, отличной от мишени в геноме, в который она подлежит введению, к примеру, определенной с помощью стандартного поиска BLAST.

siRNA и shRNA имеют сходство с промежуточными соединениями в пути процессинга генов эндогенной microRNA (miRNA) (Bartel, Cell 116:281-297, 2004). В некоторых случаях siRNA могут функционировать в качестве miRNA и наоборот (Zeng et al., Mol. Cell 9:1327-1333, 2002; Doench et al., Genes Dev. 17:438-442, 2003). Экзогенные siRNA снижают экспрессию mRNA с помощью затравочной области, комплементарной siRNA (Birmingham et al., Nat. Methods 3:199-204, 2006). Несколько целевых сайтов в 3'-UTR обеспечивают более сильное снижение экспрессии (Doench et al., Genes Dev. 17:438-442, 2003).

Известные эффективные последовательности siRNA и когнатные связывающие сайты также хорошо представлены в соответствующей литературе. Молекулы для RNAi без труда разрабатывают и получают с помощью технологий, известных в данной области техники. Помимо этого, существуют компьютерные средства, которые повышают вероятность обнаружения эффективных и специфических мотивов последовательностей (Pei et al., Nat. Methods 3(9):670-676, 2006; Reynolds et al., Nat. Biotechnol. 22(3):326-330, 2004; Khvorova et al., Nat. Struct. Biol. 10(9):708-712, 2003; Schwarz et al., Cell 115(2):199-208, 2003; Ui-Tei et al., Nucleic Acids Res. 32(3):936-948, 2004; Heale et al., Nucleic Acids Res. 33(3):e30, 2005; Chalk et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 319(1):264-274, 2004; и Amarzguioui et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 316(4):1050-1058, 2004).

Молекула для RNAi модулирует экспрессию РНК, кодируемую геном. Поскольку многочисленные гены могут разделять некоторую степень гомологии последовательностей друг с другом, в некоторых случаях молекула RNAi может быть сконструирована таким образом, чтобы целенаправленно воздействовать на класс генов с достаточной гомологией последовательностей. В некоторых случаях молекула для RNAi может содержать последовательность, которая характеризуется комплементарностью по отношению к последовательностям, которые являются общими среди различных генных мишеней или являются уникальным в отношении определенной генной мишени. В

некоторых случаях молекула для RNAi может быть сконструирована таким образом, чтобы целенаправленно воздействовать на консервативные области последовательности РНК, характеризующиеся гомологией между несколькими генами, тем самым целенаправленно воздействуя на несколько генов в семействе генов (например, различные изоформы генов, сплайс-варианты, мутантные гены и т. д.). В некоторых случаях молекула для RNAi может быть сконструирована с целью целенаправленного воздействия на последовательность, которая является уникальной в отношении определенной последовательности РНК одного гена.

Молекула ингибирующей РНК может быть модифицированной, например, с обеспечением содержания модифицированных нуклеотидов, например, 2'-фтор, 2'-о-метил, 2'-дезоксидезоксирибозид, разомкнутой нуклеиновой кислоты, 2'-гидроксидезоксирибозид, фосфотиоата, 2'-тиоуридина, 4'-тиоуридина, 2'-дезокситиоуридина. Не ограничиваясь теорией, считается, что такие модификации могут повышать устойчивость к нуклеазе и/или стабильность в сыворотке крови или снижать иммуногенность.

В некоторых случаях молекула для RNAi связывается с полимером для доставки с помощью физиологически неустойчивой связи или линкера. Физиологически неустойчивый линкер выбирают таким образом, что он подвергается химической трансформации (например, расщеплению) при присутствии в определенных физиологических условиях (например, дисульфидная связь, расщепляемая в восстанавливающей среде цитоплазмы клетки). Высвобождение молекулы из полимера в результате расщепления физиологически неустойчивой связи облегчает взаимодействие молекулы с подходящими клеточными компонентами с целью обеспечения активности.

Конъюгат молекула для RNAi-полимер может быть образован с помощью ковалентного связывания молекулы с полимером. Полимер полимеризуют или модифицируют таким образом, что он содержит реакционную группу А. Молекулу для RNAi также полимеризуют или модифицируют таким образом, что она содержит реакционную группу В. Реакционные группы А и В выбирают таким образом, что они могут связываться посредством обратимой ковалентной связи с помощью способов, известных в данной области техники.

Конъюгация молекулы для RNAi с полимером может быть выполнена в присутствии избытка полимера. Поскольку молекула для RNAi и полимер могут иметь разный заряд во время конъюгации, наличие избытка полимера может приводить к снижению или устранению агрегации конъюгата. В альтернативном случае можно применять избыток полимера-носителя, такого как поликатион. Избыток полимера может быть удален из конъюгированного полимера перед введением конъюгата. В альтернативном случае избыток полимера может быть введен совместно с конъюгатом.

Инъекция двухнитевой РНК (dsRNA) в организм материнских особей насекомых приводит к эффективному подавлению экспрессии генов их потомства во время эмбриогенеза, см., например, Khila et al., *PLoS Genet.* 5(7):e1000583, 2009; и Liu et al., *Development* 131(7):1515-1527, 2004. Matsuura et al. (*PNAS* 112(30):9376-9381, 2015)

показали, что подавление Ubx приводит к устранению бактериоцитов и расположения бактериоцитов в симбионте.

Получение и применение ингибирующих средств на основе некодирующей РНК, такой как рибозимы, РНКазы Р, молекулы для siRNA и miRNA, также известно в данной области техники, к примеру, как описано в Sioud, RNA Therapeutics: Function, Design, and Delivery (Methods in Molecular Biology). Humana Press (2010).

(d) Редактирование генов

Композиции для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная), описанные в данном документе, могут содержать компонент системы редактирования генов. Например, средство может внести изменение (например, вставку, делецию (например, нокаут), транслокацию, инверсию, точечную мутацию или другую мутацию) в ген вредителя. Иллюстративные системы редактирования генов включают нуклеазы с цинковыми пальцами (ZFN), нуклеазы на основе эффектора, подобного активаторам транскрипции (TALEN), и системы коротких палиндромных повторов, регулярно расположенных группами (CRISPR). Способы на основе ZFN, TALEN и CRISPR описаны, например, в Gaj et al., *Trends Biotechnol.* 31(7):397-405, 2013.

В типичной системе CRISPR/Cas эндонуклеаза направлена на целевую нуклеотидную последовательность (например, сайт в геноме, который подлежит редактированию последовательности) с помощью специфических в отношении последовательности некодирующих направляющих РНК, которые целенаправленно воздействуют на одно- или двухнитевые последовательности ДНК. Было идентифицировано три класса (I-III) систем CRISPR. В системах CRISPR II класса используется одна эндонуклеаза Cas (вместо нескольких белков Cas). Одна система CRISPR II класса включает эндонуклеазу Cas II типа, такую как Cas9, CRISPR-РНК (crRNA) и транс-активирующую crRNA (tracrRNA). crRNA содержит направляющую РНК, т. е., как правило, последовательность РНК из приблизительно 20 нуклеотидов, которая соответствует целевой последовательности ДНК. crRNA также содержит область, которая связывается с tracrRNA с образованием частично двухнитевой структуры, которая расщепляется РНКазой III, что приводит к образованию гибрида crRNA/tracrRNA. РНК выступают в качестве направляющих последовательностей для направления белков Cas к специфическим в отношении сайленсинга последовательностям ДНК/РНК, в зависимости от спейсерной последовательности. См., например, Horvath et al., *Science* 327:167-170, 2010; Makarova et al., *Biology Direct* 1:7, 2006; Pennisi, *Science* 341:833-836, 2013. Последовательность ДНК-мишени должна, как правило, прилегать к мотиву, прилегающему к протоспейсеру (PAM), который является специфичным для определенной эндонуклеазы Cas; однако, последовательности PAM встречаются по всему рассматриваемому геному. Эндонуклеазы CRISPR, идентифицированные у различных прокариотических видов, обладают уникальными требованиями к последовательностям PAM; примеры последовательностей PAM включают 5'-NGG (SEQ ID NO: 78) (*Streptococcus pyogenes*), 5'-NNAGAA (SEQ ID NO: 79) (*Streptococcus thermophilus*

CRISPR1), 5'-NGGNG (SEQ ID NO: 80) (*Streptococcus thermophilus* CRISPR3) и 5'-NNGATT (SEQ ID NO: 81) (*Neisseria meningitidis*). Некоторые эндонуклеазы, например, эндонуклеазы Cas9, ассоциированы с сайтами PAM с высоким содержанием G, например, 5'-NGG (SEQ ID NO: 78), и осуществляют расщепление с образованием тупых концов целевой ДНК в положении на 3 нуклеотида выше от (от 5') сайта PAM. Другая система CRISPR II класса включает эндонуклеазу Cpf1 V типа, которая имеет меньший размер, чем Cas9; примеры включают AsCpf1 (из *Acidaminococcus* sp.) и LbCpf1 (из *Lachnospiraceae* sp.). Cpf1-ассоциированные матрицы CRISPR подвергаются процессингу в зрелые crRNA без потребности в tracrRNA; другими словами, система Cpf1 требует только наличия нуклеазы Cpf1 и crRNA для расщепления целевой последовательности ДНК. Эндонуклеазы Cpf1 ассоциированы с сайтами PAM с высоким содержанием T, например, 5'-TTN. Cpf1 также может распознавать PAM-мотив 5'-CTA. Cpf1 расщепляет ДНК-мишень посредством введения смещенного или ступенчатого двухнитевого разрыва с образованием 5'-выступающего конца длиной 4 или 5 нуклеотидов, например, посредством расщепления ДНК-мишени с образованием смещенного или ступенчатого разреза, охватывающего 5 нуклеотидов, расположенного на 18 нуклеотидов ниже сайта PAM (в 3'-направлении от него) на кодирующей нити и на 23 нуклеотида ниже сайта PAM на комплементарной нити; при этом выступающий конец длиной 5 нуклеотидов, который образуется в результате такого смещенного расщепления, обеспечивает возможность более точного редактирования генома посредством вставки ДНК путем гомологичной рекомбинации по сравнению со вставкой в ДНК, подвергнутой расщеплению с образованием тупых концов. См., например, Zetsche et al., *Cell* 163:759-771, 2015.

В целях редактирования генома матрицы CRISPR могут быть сконструированы таким образом, чтобы содержать одну или множество последовательностей направляющей РНК, соответствующих необходимой целевой последовательности ДНК; см., например, Cong et al., *Science* 339:819-823, 2013; Ran et al., *Nature Protocols* 8:2281-2308, 2013. По меньшей мере приблизительно 16 или 17 нуклеотидов из последовательности gRNA требуется Cas9 для того, чтобы произошло расщепление ДНК; в случае Cpf1 по меньшей мере приблизительно 16 нуклеотидов из последовательности gRNA необходимо для достижения расщепления ДНК, поддающегося выявлению. На практике последовательности направляющей РНК, как правило, конструируют таким образом, чтобы они имели длину от 17 до 24 нуклеотидов (например, 19, 20 или 21 нуклеотидов) и комплементарность по отношению к последовательности гена-мишени или нуклеиновой кислоты. Специализированные генераторы и алгоритмы для создания gRNA являются коммерчески доступными для применения в разработке эффективных направляющих РНК. Редактирование генов также осуществляли с помощью химерных одиночных направляющих РНК (sgRNA), сконструированной (синтетической) одиночной молекулы РНК, которая имитирует встречающийся в природе комплекс crRNA-tracrRNA и содержит как tracrRNA (для связывания с нуклеазой), так и по меньшей мере одну crRNA (для направления нуклеазы к последовательности, которая служит мишенью для

редактирования). Также было продемонстрировано, что химически модифицированные sgRNA являются эффективными в редактировании геномов; см., к примеру, Hendel et al., *Nature Biotechnol.* 985-991, 2015.

В то время как Cas9 дикого типа приводит к образованию двухнитевых разрывов (DSB) в определенных последовательностях ДНК, в отношении которых происходит целенаправленное воздействие gRNA, доступен ряд эндонуклеаз CRISPR, имеющих модифицированные функциональные свойства, к примеру: версия никазы Cas9 приводит к образованию только однонитевого разрыва; каталитически неактивный Cas9 (dCas9) не разрезает целевую ДНК, однако нарушает транскрипцию в результате стерического затруднения. dCas9 может быть дополнительно слит с эффектором для обеспечения репрессии (CRISPRi) или активации (CRISPRa) экспрессии целевого гена. К примеру, Cas9 может быть слит с транскрипционным репрессором (например, доменом KRAB) или транскрипционным активатором (например, слияние dCas9-VP64). Каталитически неактивный Cas9 (dCas9), слитый с нуклеазой FokI (dCas9-FokI), может быть использован для образования DSB в целевых последовательностях, гомологичных двум gRNA. См., например, многочисленные плазмиды на основе CRISPR/Cas9, раскрытые в репозитории Addgene (Addgene, 75 Sidney St., Suite 550A, Cambridge, MA 02139; addgene.org/crispr/) и публично доступные из него. Двойная никаза Cas9, которая вводит два отдельных двухнитевых разрыва, каждый из которых направляется отдельной направляющей РНК, описана как достигающая более точного редактирования генома Ran et al., *Cell* 154:1380-1389, 2013.

Технология CRISPR для редактирования генов эукариот раскрыта в публикациях заявки на патент США US 2016/0138008 A1 и US 2015/0344912 A1 и в патентах США 8697359, 8771945, 8945839, 8999641, 8993233, 8895308, 8865406, 8889418, 8871445, 8889356, 8932814, 8795965 и 8906616. Эндонуклеаза Cpf1 и соответствующие направляющие РНК и сайты PAM раскрыты в публикации заявки на патент США 2016/0208243 A1.

В некоторых случаях необходимая модификация генома включает в себя гомологическую рекомбинацию, при этом один или несколько двухнитевых разрывов ДНК в целевой нуклеотидной последовательности образуются с помощью направляемой РНК нуклеазы и направляющей(-их) РНК с последующей репарацией разрыва(разрывов) путем механизма гомологичной рекомбинации (репарации, направляемой гомологией). В таких случаях донорная матрица, которая кодирует необходимую нуклеотидную последовательность, подлежащую вставке или нокированию в двухнитевом разрыве, предусмотрена для клетки или субъекта; примеры подходящих матриц включают однонитевые матрицы ДНК и двухнитевые матрицы ДНК (например, связанные с полипептидом, описанным в данном документе). Как правило, донорная матрица, кодирующая нуклеотидное изменение на протяжении участка менее чем приблизительно 50 нуклеотидов, предусмотрена в виде однонитевой ДНК; более крупные донорные матрицы (например, более чем 100 нуклеотидов) часто предусмотрены в виде плазмид на

основе двухнитевой ДНК. В некоторых случаях донорная матрица предусмотрена для клетки или субъекта в количестве, которое является достаточным для достижения необходимой репарации, направляемой гомологией, но она не сохраняется в клетке или у субъекта после определенного периода времени (например, после одного или нескольких циклов клеточного деления). В некоторых случаях донорная матрица имеет коровую нуклеотидную последовательность, которая отличается от целевой нуклеотидной последовательности (например, гомологичной эндогенной геномной области) на по меньшей мере 1, по меньшей мере 5, по меньшей мере 10, по меньшей мере 20, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50 или больше нуклеотидов. Указанная коровая последовательность фланкируется гомологичными плечами или областями с высокой идентичностью последовательности по отношению к целевой нуклеотидной последовательности; в некоторых случаях области высокой идентичности включают по меньшей мере 10, по меньшей мере 50, по меньшей мере 100, по меньшей мере 150, по меньшей мере 200, по меньшей мере 300, по меньшей мере 400, по меньшей мере 500, по меньшей мере 600, по меньшей мере 750 или по меньшей мере 1000 нуклеотидов с каждой стороны коровой последовательности. В некоторых случаях, если донорная матрица находится в виде одонитевой ДНК, то коровая последовательность фланкируется гомологичными плечами, содержащими по меньшей мере 10, по меньшей мере 20, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 60, по меньшей мере 70, по меньшей мере 80 или по меньшей мере 100 нуклеотидов с каждой стороны коровой последовательности. В случаях, если донорная матрица находится в виде двухнитевой ДНК, то коровая последовательность фланкируется гомологичными плечами, содержащими по меньшей мере 500, по меньшей мере 600, по меньшей мере 700, по меньшей мере 800, по меньшей мере 900 или по меньшей мере 1000 нуклеотидов с каждой стороны коровой последовательности. В одном случае два отдельных двухнитевых разрыва вводят в клетку или целевую нуклеотидную последовательность субъекта с помощью двойной нуклеазы Cas9 (см. Ran et al., Cell 154:1380-1389, 2013) с последующей доставкой донорной матрицы.

В некоторых случаях композиция содержит gRNA и нацеленную нуклеазу, например, Cas9, например, Cas9 дикого типа, нуклеазу Cas9 (например, Cas9 D10A), неактивную форму Cas9 (dCas9), eSpCas9, Cpf1, C2C1 или C2C3 или нуклеиновую кислоту, кодирующую такую нуклеазу. Выбор нуклеазы и gRNA определяется тем, представляет ли собой целевая мутация делецию, замену или добавление нуклеотидов, например, делецию, замену или добавление нуклеотидов по отношению к целевой последовательности. Слияния каталитически неактивной эндонуклеазы, например, неактивной формы Cas9 (dCas9, например, D10A; H840A), связанной со всей или частью (например, биологически активной частью) (одного или нескольких) эффекторных доменов приводят к образованию химерных белков, которые могут быть слиты с полипептидом с целью направления композиции к определенным сайтам ДНК с помощью одной или нескольких последовательностей РНК (sgRNA) для модулирования активности

и/или экспрессии одной или нескольких целевых последовательностей нуклеиновых кислот.

В некоторых случаях средство включает направляющую РНК (gRNA) для применения в системе CRISPR для редактирования генов. В некоторых случаях средство включает нуклеазу с цинковыми пальцами (ZFN) или мРНК, кодирующую ZFN, которая целенаправленно воздействует на (например, расщепляет) последовательность нуклеиновой кислоты (например, последовательность ДНК) гена у вредителя. В некоторых случаях средство включает TALEN или mRNA, кодирующую TALEN, которая целенаправленно воздействует на (например, расщепляет) последовательность нуклеиновой кислоты (например, последовательность ДНК) в гене у вредителя.

Например, gRNA можно использовать в системе CRISPR для конструирования изменения гена у вредителя. В других примерах ZFN и/или TALEN могут быть использованы для конструирования изменения гена у вредителя. Иллюстративные изменения включают вставки, делеции (например, нокауты), транслокации, инверсии, точечные мутации или другие мутации. Изменение может быть введено в ген в клетке, например, *in vitro*, *ex vivo* или *in vivo*. В некоторых примерах изменение повышает уровень и/или активность гена у вредителя. В других примерах изменение снижает уровень и/или активность (например, приводит к нокауту или нокауту) гена у вредителя. В еще одном примере изменение исправляет дефект (например, мутацию, вызывающую дефект) в гене у вредителя.

В некоторых случаях система CRISPR используется для редактирования (например, для добавления или удаления пары оснований) целевого гена у вредителя. В других случаях система CRISPR применяется для введения преждевременного стоп-кодона, например, со снижением тем самым экспрессии гена-мишени. В еще одних случаях система CRISPR применяется для отключения гена-мишени обратимым образом, например, аналогично РНК-интерференции. В некоторых случаях система CRISPR применяется для направления Cas к промотору гена, со стерическим блокированием тем самым РНК-полимеразы.

В некоторых случаях может быть создана система CRISPR для редактирования гена у вредителя с использованием технологии, описанной, например, в публикации США № 20140068797, Cong, Science 339: 819-823, 2013; Tsai, Nature Biotechnol. 32:6 569-576, 2014; патентах США №№ 8871445; 8865406; 8795965; 8771945 и 8697359.

В некоторых случаях методика CRISPR-интерференции (CRISPRi) может использоваться для репрессии транскрипции определенных генов у вредителя. В случае CRISPRi сконструированный белок Cas9 (например, нулевая нуклеаза dCas9 или слитый белок dCas9, например, слияние dCas9-KRAB или dCas9-SID4X) может спариваться со специфической в отношении последовательности направляющей РНК (sgRNA). Комплекс Cas9-gRNA может блокировать РНК-полимеразу, тем самым препятствуя элонгации транскрипта. Данный комплекс также может блокировать инициацию транскрипции путем препятствования связыванию с транскрипционными факторами. Способ CRISPRi

является специфическим с минимальными нецелевыми эффектами и мультиплексным, например, может одновременно приводить к репрессии более одного гена (например, с помощью нескольких gRNA). Кроме того, способ CRISPRi обеспечивает обратимую репрессию генов.

В некоторых случаях активация гена, опосредованная CRISPR (CRISPRa), может использоваться для активации транскрипции гена у вредителя. В случае методики CRISPRa слитые белки dCas9 обеспечивают рекрутинг транскрипционных активаторов. К примеру, dCas9 может быть слит с полипептидами (например, доменами активации), такими как VP64 или доменом активации p65 (p65D), и использован совместно с sgRNA (например, одиночной sgRNA или несколькими sgRNA) с целью активации гена или генов у вредителя. Многочисленные активаторы могут быть подвергнуты рекрутингу с помощью многочисленных sgRNA, причем это может обеспечивать повышение эффективности активации. Можно применять ряд доменов активации и одиночные или множественные домены активации. Помимо конструирования dCas9 с целью рекрутинга активаторов, также для рекрутинга активаторов могут быть сконструированы sgRNA. К примеру, РНК-аптамеры могут быть включены в sgRNA с целью рекрутинга белков (например, доменов активации), таких как VP64. В некоторых примерах системы посредников синергетической активации (SAM) можно применять для активации транскрипции. В случае SAM MS2-аптамеры добавляют к sgRNA. MS2 способствует рекрутингу белка оболочки MS2 (MCP), слитого с p65AD и фактором теплового шока 1 (HSF1).

Методики CRISPRi и CRISPRa описаны более подробно, например, в Dominguez et al., Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 17:5-15, 2016, включенном в данный документ посредством ссылки. Кроме того, опосредованные dCas9 эпигенетические модификации и одновременная активация и репрессия с использованием систем CRISPR, как описано у Dominguez et al., могут быть использованы для модуляции гена у вредителя.

iii. Низкомолекулярные соединения

В некоторых случаях композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная) содержит низкомолекулярное соединение, например, биологическое низкомолекулярное соединение. Многочисленные средства на основе низкомолекулярных соединений пригодны в способах и композициях, описанных в данном документе.

Низкомолекулярные соединения включают без ограничения низкомолекулярные пептиды, пептидомиметики (например, пептоиды), аминокислоты, аналоги аминокислот, синтетические полинуклеотиды, аналоги полинуклеотидов, нуклеотиды, аналоги нуклеотидов, органические и неорганические соединения (в том числе гетероорганические и металлоорганические соединения), как правило, характеризующиеся молекулярной массой менее чем приблизительно 5000 грамм на моль, например, органические или неорганические соединения, характеризующиеся молекулярной массой менее чем приблизительно 2000 грамм на моль, например, органические или

неорганические соединения, характеризующиеся молекулярной массой менее чем приблизительно 1000 грамм на моль, например, органические или неорганические соединения, характеризующиеся молекулярной массой менее чем приблизительно 500 грамм на моль, а также соли, сложные эфиры и другие фармацевтически приемлемые формы таких соединений.

Низкомолекулярное соединение, описанное в данном документе, может быть включено в композицию или ассоциировано с РМР для любой из композиций для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной) или соответствующих способов, описанных в данном документе. Композиции, раскрытые в данном документе, могут содержать любое количество или тип (например, классы) низкомолекулярных соединений, например, по меньшей мере приблизительно любое количество из 1 малой молекулы, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20 или большего количества низкомолекулярных соединений. Подходящая концентрация каждого низкомолекулярного соединения в композиции зависит от таких факторов, как эффективность, стабильность низкомолекулярного соединения, количество различных низкомолекулярных соединений, состав и способы применения композиции. В некоторых случаях, если композиция содержит по меньшей мере два типа низкомолекулярных соединений, то концентрация каждого типа низкомолекулярного соединения может быть одной и той же или разной.

Композицию для контроля вредителей (например, биопестицидную или биорепеллентную), содержащую низкомолекулярное соединение, как описано в данном документе, можно привести в контакт с целевым вредителем в количестве и в течение времени, достаточных для: (а) достижения целевого уровня (например, предварительно определенного или порогового уровня) концентрации низкомолекулярного соединения внутри целевого вредителя или на нем, или растения, зараженного им; и (b) снижения приспособленности целевого вредителя.

В некоторых случаях композиция для контроля вредителей (например, биопестицидная или биорепеллентная) согласно композициям и способам, описанных в данном документе, содержит вторичный метаболит. Вторичные метаболиты образуются из органических молекул, продуцируемых организмом. Вторичные метаболиты могут выступать (i) в качестве конкурентных средств, применяемых в отношении бактерий, грибов, амёб, растений, насекомых и крупных животных; (ii) в качестве средств, транспортирующих металлы; (iii) в качестве средств, способствующих симбиозу между микроорганизмами и растениями, насекомыми и более крупными животными; (iv) в качестве половых гормонов и (v) в качестве эффекторов дифференцировки.

Вторичный метаболит, применяемый в данном документе, может включать метаболит из любой известной группы вторичных метаболитов. Например, вторичные метаболиты можно классифицировать на следующие группы: алкалоиды, терпеноиды, флавоноиды, гликозиды, природные фенолы (например, госсиполуксусная кислота), енали (например, транс-коричный альдегид), феназины, бифенолы и дибензофураны, поликетиды, пептиды синтазы жирных кислот, нерибосомальные пептиды, пептиды,

синтезируемые рибосомами и подвергающиеся посттрансляционным модификациям, полифенолы, полисахариды (например, хитозан) и биополимеры. Углубленный обзор вторичных метаболитов см., например, в Vining, *Annu. Rev. Microbiol.* 44:395-427, 1990.

Композицию для контроля вредителей (например, биопестицидную или биорепеллентную), содержащую вторичный метаболит, как описано в данном документе, можно привести в контакт с целевым вредителем в количестве и в течение времени, достаточных для: (а) достижения целевого уровня (например, предварительно определенного или порогового уровня) концентрации вторичного метаболита внутри целевого вредителя или на нем, или растения, зараженного им; и (b) снижения приспособленности целевого вредителя.

VI. Наборы

В настоящем изобретении также предусмотрен набор для контроля, предупреждения или лечения заболевания растений, где набор содержит контейнер, содержащий композицию для контроля вредителей (например, биопестицидную или биорепеллентную), описанную в данном документе. Набор может дополнительно содержать инструктивный материал по применению или доставке (например, по отношению к растению или по отношению к вредителю растения) композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной) для осуществления контроля, предупреждения или лечения заражения растений вредителями в соответствии со способом по настоящему изобретению. Специалисту в данной области техники будет понятно, что инструкции по применению композиции для контроля вредителей (например, биопестицидной или биорепеллентной) в способах по настоящему изобретению могут являться инструкциями, представленными в любом виде. Такие инструкции включают без ограничения письменные инструкции (например, этикетку, буклет, брошюру), устные инструктивные материалы (например, представленные на аудиокассете или CD) или видеoinструкции (например, представленные на видеокассете или DVD).

ПРИМЕРЫ

Далее представлены примеры способов по настоящему изобретению. Следует понимать, что на практике возможно осуществление различных других вариантов осуществления с учетом общего описания, приведенного выше.

Пример 1. Выделение пакетов-мессенджеров растений из растений

В этом примере продемонстрировано выделение неочищенных пакетов-мессенджеров растений (РМР) из различных растительных источников, в том числе апопласта листа, апопласта семени, корня, плода, овоща, пыльцы, флоэмного, ксилемного сока и среды для культивирования клеток растений.

Схема эксперимента

*а) Выделение РМР из апопласта листьев *Arabidopsis thaliana**

Семена растения рода *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana* Col-0) подвергали поверхностной стерилизации с помощью 50% отбеливателя и высевали на среду 0,53

Мурасиге-Скуга, содержащую 0,8% агара. Семена яровизировали в течение 2 дней при 4°C перед перемещением в условия короткого дня (9-часовые дни, 22°C, 150 мкЕм⁻²). Через 1 неделю проростки переносили в Pro-Mix PGX. Растения выращивали в течение 4-6 недель до сбора.

РМР выделяли из жидкости, полученной в результате промывки апопласта 4-6-недельных розеток растения рода *Arabidopsis*, как описано Rutter и Innes, *Plant Physiol.* 173 (1): 728-741, 2017. Вкратце, целые розетки собирали у корня и инфильтрировали под вакуумом буфером для выделения везикул (20 mM MES, 2 mM CaCl₂ и 0,1 M NaCl, pH 6). Инфильтрованные растения осторожно промокивали для удаления излишков жидкости, помещали в шприцы на 30 мл и центрифугировали в конических пробирках объемом 50 мл при 700 g в течение 20 мин. при 2°C для сбора внеклеточной жидкости апопласта, содержащей EV. Затем внеклеточную жидкость апопласта фильтровали через фильтр с размером пор 0,85 мкм для удаления крупных частиц и РМР очищали, как описано в примере 2.

b) Выделение РМР из апопласта семян подсолнечника

Интактные семена подсолнечника (*H. annuus* L.) замачивали в воде на 2 часа, очищали с удалением околоплодника и экстрагировали внеклеточную жидкость апопласта с помощью модифицированной процедуры вакуумной инфильтрации-центрифугирования, основанной на Regente et al, *FEBS Letters.* 583: 3363-3366, 2009. Вкратце, семена погружали в буфер для выделения везикул (20 mM MES, 2 mM CaCl₂ и 0,1 M NaCl, pH 6) и подвергали действию трех вакуумных импульсов продолжительностью 10 с, разделенных интервалами 30 с, при давлении 45 кПа. Инфильтрованные семена извлекали, сушили на фильтровальной бумаге, помещали в пористые стеклянные фильтры и центрифугировали в течение 20 мин. при 400 g при 4°C. Внеклеточную жидкость апопласта извлекали, фильтровали через фильтр с размером пор 0,85 мкм с удалением крупных частиц и РМР очищали, как описано в примере 2.

c) Выделение РМР из корней имбиря

Свежие корневищные корни имбиря (*Zingiber officinale*) приобретали у местного поставщика и промывали 3 раза с помощью PBS. Всего 200 граммов помытых корней измельчали в смесителе (12-скоростной измельчитель Osterizer) на наиболее высокой скорости в течение 10 мин. (пауза 1 мин. на каждую 1 мин. измельчения-смешивания) и выделяли РМР, как описано в Zhuang et al., *J Extracellular Vesicles.* 4(1):28713, 2015. Вкратце, имбирный сок последовательно центрифугировали при 1000 g в течение 10 мин., при 3000 g в течение 20 мин. и при 10000 g в течение 40 мин. с удалением крупных частиц из супернатанта, содержащего РМР. РМР очищали, как описано в примере 2.

d) Выделение РМР из грейпфрутового сока

Свежие грейпфруты (*Citrus × paradisi*) приобретали у местного поставщика, их кожицу удаляли, а плоды выжимали вручную или измельчали в смесителе (12-скоростной измельчитель Osterizer) на наиболее высокой скорости в течение 10 мин. (пауза 1 мин. на каждую минуту измельчения-смешивания) со сбором сока, как описано в Wang et al.,

Molecular Therapy. 22(3): 522-534, 2014, с незначительными модификациями. Вкратце, сок/мякоть сока последовательно центрифугировали при 1000 g в течение 10 мин., при 3000 g в течение 20 мин. и при 10000 g в течение 40 мин. с удалением крупных частиц из супернатанта, содержащего РМР. РМР очищали, как описано в примере 2.

e) Выделение РМР из головок брокколи

РМР брокколи (*Brassica oleracea* var. *italica*) выделяли, как описано ранее (Deng et al., Molecular Therapy, 25(7): 1641-1654, 2017). Вкратце, свежую брокколи приобретали у местного поставщика, трижды промывали с помощью PBS и измельчали в смесителе (12-скоростной измельчитель Osterizer) на максимальной скорости в течение 10 мин. (пауза 1 мин. на каждую минуту измельчения-смешивания). Затем сок брокколи последовательно центрифугировали при 1000 g в течение 10 мин., при 3000 g в течение 20 мин. и при 10000 g в течение 40 мин. с удалением крупных частиц из супернатанта, содержащего РМР. РМР очищали, как описано в примере 2.

f) Выделение РМР из пыльцы оливы

РМР из пыльцы оливы (*Olea europaea*) выделяли, как ранее описано в Prado et al., Molecular Plant. 7(3):573-577, 2014. Вкратце, пыльцу оливы (0,1 г) гидратировали во влажной камере при комнатной температуре в течение 30 мин. перед переносом в чашки Петри (диаметром 15 см), содержащие 20 мл среды для проращивания: 10% сахарозы, 0,03% $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 0,01% KNO_3 , 0,02% MgSO_4 и 0,03% H_3BO_3 . Пыльцу проращивали при 30°C в темноте в течение 16 ч. Пыльцевые зерна считались проросшими только когда длина трубки превышала диаметр пыльцевого зерна. Культуральную среду, содержащую РМР, собирали и очищали от остатков пыльцы путем двух последовательных фильтраций на фильтрах с размером пор 0,85 мкм путем центрифугирования. РМР очищали, как описано в примере 2.

g) Выделение РМР из флоэмного сока растения рода *Arabidopsis*

Семена растения рода *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana* Col-0) подвергали поверхностной стерилизации с помощью 50% отбеливателя и высевали на среду 0,53 Мурасиге-Скуга, содержащую 0,8% агара. Семена яровизировали в течение 2 дней при 4°C перед перемещением в условия короткого дня (9-часовые дни, 22°C, 150 мкЕм⁻²). Через 1 неделю проростки переносили в Pro-Mix PGX. Растения выращивали в течение 4-6 недель до сбора.

Флоэмный сок из 4-6-недельных листьев розеток растения рода *Arabidopsis* собирали, как описано Tetyuk et al., JoVE 80, 2013. Вкратце, листья срезали у основания черешка, складывали в стопки и помещали в пробирку для реакций, содержащую 20 мМ K2-EDTA, на один час в темноте, чтобы предупредить закупорку раны. Листья осторожно удаляли из емкости, тщательно промывали дистиллированной водой с удалением всей EDTA, помещали в чистую пробирку и флоэмный сок собирали в течение 5-8 часов в темноте. Листья удаляли, флоэмный сок фильтровали через фильтр с размером пор 0,85 мкм с удалением крупных частиц, и РМР очищали, как описано в примере 2.

h) Выделение РМР из ксилемного сока растения томата

Семена томата (*Solanum lycopersicum*) высаживали в один горшок в богатую органическими веществами почву, такую как Sunshine Mix (Sun Gro Horticulture, Агавам, Массачусетс), и выдерживали в теплице при температуре от 22°C до 28°C. Приблизительно через две недели после прорастания, на стадии двух настоящих листьев, проростки по отдельности пересаживали в горшки (диаметром 10 см и глубиной 17 см), заполненные стерильной песчаной почвой, содержащей 90% песка и 10% смеси органических веществ. Растения выдерживали в теплице при температуре 22-28°C в течение четырех недель.

Ксилемный сок из 4-недельных растений томата собирали, как описано Kohlen et al., *Plant Physiology*. 155(2):721-734, 2011. Вкратце, растения томата декапитировали над гипокотилем и вокруг стебля помещали пластмассовое кольцо. Накапливающийся ксилемный сок собирали в течение 90 мин. после декапитации. Ксилемный сок фильтровали через фильтр с размером пор 0,85 мкм с удалением крупных частиц и РМР очищали, как описано в примере 2.

1) Выделение РМР из среды для культивирования клеток табака ВУ-2

Клетки табака ВУ-2 (*Nicotiana tabacum* L cv. Bright Yellow 2) культивировали в темноте при 26°C на шейкере при 180 об./мин. в MS-среде (Мурасиге-Скуга, 1962) для культивирования ВУ-2 (рН 5,8), содержащей соли MS (Duchefa, Харлем, Нидерланды, № M0221) с добавлением 30 г/л сахарозы, 2,0 мг/л дигидрофосфата калия, 0,1 г/л миоинозита, 0,2 мг/л 2,4-дихлорфеноксисукусной кислоты и 1 мг/л тиамина HCl. Клетки ВУ-2 еженедельно пересевали путем переноса 5% (об./об.) 7-дневной культуры клеток в 100 мл свежей жидкой среды. Через 72-96 часов культуральную среду ВУ-2 собирали и центрифугировали при 300 g при 4°C в течение 10 минут для удаления клеток. Супернатант, содержащий РМР, собирали и очищали от остатков путем фильтрования на фильтре с размером пор 0,85 мкм. РМР очищали, как описано в примере 2.

Пример 2. Получение очищенных пакетов-мессенджеров растений (РМР)

В этом примере продемонстрировано получение очищенных РМР из фракций неочищенных РМР, описанных в **примере 1**, с применением ультрафильтрации в комбинации с эксклюзионной хроматографией, градиента плотности (йодиксанол или сахароза) и удаления агрегатов с помощью осаждения или эксклюзионной хроматографии.

Схема эксперимента

а) Получение очищенных РМР из грейпфрута с применением ультрафильтрации в комбинации с эксклюзионной хроматографией

Фракцию неочищенных РМР из грейпфрута из **примера 1а** концентрировали с применением центробежного фильтра Amicon с отсечением по молекулярной массе 100 кДа (MWCO) (Merck Millipore). Затем концентрированный раствор неочищенных РМР загружали в колонку для эксклюзионной хроматографии PURE-EV (HansaBioMed Life Sciences Ltd) и выделение осуществляли в соответствии с инструкциями производителя. Очищенные фракции, содержащие РМР, объединяли после элюирования. Необязательно РМР могли дополнительно концентрировать с применением центробежного фильтра

Amicon MWCO 100 кДа или посредством фильтрации в тангенциальном потоке (TFF). Очищенные РМР анализировали, как описано в **примере 3**.

b) Получение очищенных РМР из апопласта растения рода Arabidopsis с применением градиента йодиксанола

Неочищенные РМР из апопласта листьев растения рода Arabidopsis выделяли, как описано в **примере 1a**, а очищенные РМР получали с применением градиента йодиксанола, как описано в Rutter and Innes, Plant Physiol. 173(1): 728-741, 2017. Для приготовления ступенчатых градиентов йодиксанола (OptiPrep; Sigma-Aldrich) получали растворы 40% (об./об.), 20% (об./об.), 10% (об./об.) и 5% (об./об.) йодиксанола путем разбавления 60% водного исходного раствора OptiPrep в буфере для выделения везикул (VIB; 20 mM MES, 2 mM CaCl₂ и 0,1 M NaCl, pH 6). Градиент образовывался путем наслаивания 3 мл 40% раствора, 3 мл 20% раствора, 3 мл 10% раствора и 2 мл 5% раствора. Раствор неочищенных РМР из апопласта из **примера 1a** центрифугировали при 40000 g в течение 60 мин. при 4°C. Осадок ресуспендировали в 0,5 мл VIB и наслаивали поверх градиента. Центрифугирование проводили при 100000 g в течение 17 ч. при 4°C. Первые 4,5 мл в верхней части градиента удаляли, а затем собирали 3 объема по 0,7 мл, которые содержали РМР из апопласта, доводили их до 3,5 мл с помощью VIB и центрифугировали при 100000 g в течение 60 мин. при 4°C. Осадки промывали с помощью 3,5 мл VIB и повторно осаждали с применением тех же условий центрифугирования. Осадки очищенных РМР объединяли для последующего анализа, как описано в **примере 3**.

c) Получение очищенных РМР из грейпфрута с применением градиента сахарозы

Неочищенные РМР из грейпфрутового сока выделяли, как описано в **примере 1d**, центрифугировали при 150000 g в течение 90 мин., и осадок, содержащий РМР, ресуспендировали в 1 мл PBS, как описано (Mu et al., Molecular Nutrition & Food Research. 58(7):1561-1573, 2014). Ресуспендированный осадок переносили в ступенчатый градиент сахарозы (8%/15%/30%/45%/60%) и центрифугировали при 150000 g в течение 120 мин. с получением очищенных РМР. Очищенные РМР из грейпфрута собирали с поверхности раздела 30%/45% и затем анализировали, как описано в **примере 3**.

d) Удаление агрегатов из РМР из грейпфрута

Для удаления белковых агрегатов из полученных РМР из грейпфрута, как описано в **примере 1d**, или из очищенных РМР из **примера 2a-c**, могли включать дополнительную стадию очистки. Полученный раствор РМР пропускали через диапазон pH для осаждения агрегатов белка в растворе. pH доводили до 3, 5, 7, 9 или 11 путем добавления гидроксида натрия или хлористоводородной кислоты. pH измеряли с применением калиброванного pH-зонда. Как только раствор достигал заданного значения pH, его отфильтровывали для удаления твердых частиц. В качестве альтернативы раствор выделенных РМР можно флокулировать с применением добавления заряженных полимеров, таких как Polymin-P или Praestol 2640. Вкратце, на л раствора добавляли 2-5 г Polymin-P или Praestol 2640 и перемешивали лопастной мешалкой. Затем раствор отфильтровывали с удалением твердых частиц. В качестве альтернативы агрегаты солибилизовали путем повышения

концентрации соли. NaCl добавляли к раствору РМР до достижения им концентрации 1 моль/л. Затем раствор фильтровали с очищением РМР. В качестве альтернативы агрегаты солюбилизировали путем повышения температуры. Смесь выделенных РМР нагревали при перемешивании до тех пор, пока раствор не достигал однородной температуры 50°C, в течение 5 минут. Затем смесь РМР отфильтровывали с выделением РМР. В качестве альтернативы растворимые контаминанты из растворов РМР отделяли с помощью эксклюзионной хроматографической колонки в соответствии со стандартными процедурами, где РМР элюировались в первых фракциях, в то время как белки, рибонуклеопротеины и некоторые липопротеины элюировались позже. Эффективность удаления агрегатов белка определяли путем измерения и сравнения концентрации белка до и после удаления агрегатов белка с помощью количественного определения белка с помощью ВСА/метода Бредфорда. Полученные РМР анализировали, как описано в **примере 3**.

Пример 3. Характеристика пакета-мессенджера растения

В этом примере продемонстрировано определение характеристик РМР, полученных, как описано в **примере 1** или **примере 2**.

Схема эксперимента

a) Определение концентрации РМР

Концентрацию частиц РМР определяли с помощью анализа траекторий наночастиц (NTA) с применением Malvern NanoSight или с помощью настраиваемого резистивного импульсного датчика (TRPS) с применением iZon qNano в соответствии с инструкциями производителя. Концентрацию белка в очищенных РМР определяли с помощью анализа белка DC (Bio-Rad). Концентрацию липидов в очищенных РМР определяли с применением флуоресцентного липофильного красителя, такого как DiOC6 (ICN Biomedicals), как описано Rutter and Innes, *Plant Physiol.* 173(1): 728-741, 2017. Вкратце, очищенные гранулы РМР из **примера 2** ресуспендировали в 100 мл 10 мМ DiOC6 (ICN Biomedicals), разбавленного буфером MES (20 мМ MES, pH 6) вместе с 1% коктейлем ингибиторов протеаз растений (Sigma-Aldrich) и 2 мМ 2,29-дипиридилдисульфида. Ресуспендированные РМР инкубировали при 37°C в течение 10 мин., промывали с помощью 3 мл буфера MES, повторно осаждали (40000 g, 60 мин., при 4°C) и ресуспендировали в свежем буфере MES. Интенсивность флуоресценции DiOC6 измеряли при длине волны возбуждения 485 нм и длине волны излучения 535 нм.

b) Биофизическая и молекулярная характеристика РМР

РМР характеризовали с помощью электронной и криоэлектронной микроскопии на трансмиссионном электронном микроскопе JEOL 1010 в соответствии с протоколом из Wu et al., *Analyst.* 140(2):386-406, 2015. Размер и дзета-потенциал РМР также измеряли с помощью Zetasizer от Malvern или qNano от iZon, согласно инструкциям производителя. Липиды выделяли из РМР с применением экстракции хлороформом и характеризовали с помощью LC-MS/MS, как показано в Xiao et al. *Plant Cell.* 22(10): 3193-3205, 2010. Липиды, представляющие собой гликозилинозитолфосфорилцерамиды (GIPC)

экстрагировали и очищали, как описано Casas et al., Plant Physiology. 170: 367-384, 2016, и анализировали с помощью LC-MS/MS, как описано выше. Общую РНК, ДНК и белок характеризовали с применением наборов Quant-It от Thermo Fisher в соответствии с инструкциями. Белки РМР характеризовали с помощью LC-MS/MS в соответствии с протоколом в Rutter and Innes, Plant Physiol. 173(1): 728-741, 2017. РНК и ДНК экстрагировали с помощью Trizol, получали в виде библиотек с помощью TruSeq Total RNA с набором Ribo-Zero Plant и набором Nextera Mate Pair Library Prep Kit от Illumina, и секвенировали на MiSeq от Illumina в соответствии с инструкциями производителя.

Пример 4. Характеристика стабильности пакета-мессенджера растений

В этом примере продемонстрировано измерение уровня стабильности РМР в широком диапазоне условий хранения и физиологических условий.

Схема эксперимента

РМР, полученные, как описано в **примерах 1 и 2**, подвергали воздействию различных условий. РМР суспендировали в воде, 5% сахарозе или PBS и оставляли на 1, 7, 30 и 180 дней при -20°C, 4°C, 20°C и 37°C. РМР также суспендировали в воде и сушили с помощью роторного испарителя и оставляли на 1, 7, 30 и 180 дней при 4°C, 20°C и 37°C. РМР также суспендировали в воде или 5% растворе сахарозы, быстро замораживали в жидком азоте и лиофилизировали. Через 1, 7, 30 и 180 дней высушенные и лиофилизированные РМР ресуспендировали в воде. Предыдущие три эксперимента с условиями при температурах выше 0°C также проводили при воздействии имитатора искусственного солнечного света, чтобы определить стабильность состава в условиях, моделирующих УФ-излучение вне помещения. РМР также подвергали воздействию температур 37°C, 40°C, 45°C, 50°C и 55°C в течение 1, 6 и 24 часов в буферных растворах с pH 1, 3, 5, 7 и 9 с добавлением или без добавления 1 единицы трипсина или других искусственных желудочных жидкостей.

После каждой из этих обработок РМР возвращали к температуре 20°C, нейтрализовали до pH 7,4 и характеризовали с применением некоторых или всех способов, описанных в **примере 3**.

Пример 5. Обработка гриба пакетами-мессенджерами растений

В этом примере продемонстрирована способность РМР, полученных из растения, такого как розетки *Arabidopsis thaliana*, снижать приспособленность патогенного гриба, например, *S. sclerotiorum*, путем непосредственной обработки гриба или распыления раствора РМР из апопласта на листья растения рода *Arabidopsis* перед подверганием воздействию гриба. В этом примере растение рода *Arabidopsis* применяли в качестве модельного растения, а *S. sclerotiorum* - в качестве модельного патогенного гриба.

Болезни растений, вызываемые агрессивными эукариотическими патогенами, такими как грибы и оомицеты, вызывают значительные потери урожая во всем мире. Например, широкий спектр патогенных грибов *Botrytis cinerea* и *Sclerotinia sclerotiorum* представляют серьезную угрозу почти для всех овощей и плодов, а также для многих цветков на стадиях до и после сбора их урожая, вызывая заболевания серой или белой

плесенью соответственно. Обработка фунгицидами необходима для сохранения здоровых сельскохозяйственных культур и получения надежных и высококачественных урожаев.

Схема обработки

Раствор РМР из апопласта растения рода *Arabidopsis* составляли с помощью 0 (отрицательный контроль), 1, 10, 50, 100 или 250 мкг белка РМР/мл из **примера 1а**, в 10 мл стерильной воды или PBS.

Схема эксперимента

а) Мечение РМР из апопласта липофильным красителем для мембран

РМР из апопласта *Arabidopsis thaliana* выделяли и очищали, как описано в **примерах 1-2**, и метили с помощью РКН26 (Sigma) в соответствии с протоколом производителя, с некоторыми модификациями. Вкратце, 50 мкг РМР из апопласта в 1 мл разбавленного С набора для мечения РКН26, смешивали с 2 мл 1 мМ РКН26 и инкубировали при 37°C в течение 5 мин. Мечение останавливали добавлением 1 мл 1% BSA. Весь не присоединенный в виде метки краситель смывали путем центрифугирования при 150000 g в течение 90 мин., и осадки меченого РМР ресуспендировали в стерильной воде.

*б) Захват РМР из апопласта аскоспорами *S. sclerotiorum**

Для определения уровня захвата РМР аскоспорами *S. sclerotiorum* (ATCC, № 18687) 10000 аскоспор инкубировали непосредственно с 0 (отрицательный контроль), 1, 10, 50, 100 или 250 мкг/мл РМР, полученных из апопласта, меченых с помощью РКН26, на предметных стеклах. В дополнение к контролю, представляющему собой PBS, аскоспоры *S. sclerotiorum* инкубировали в присутствии красителя РКН26 (конечная концентрация 5 мкг/мл). После инкубации в течение 5 мин., 30 мин. и 1 ч. при комнатной температуре получали изображения на флуоресцентном микроскопе высокого разрешения. РМР, полученные из апопласта, захвачены спорами, если цитоплазма спор становится красной по сравнению с таковой при окрашивании клеточной мембраны исключительно красителем РКН26. Регистрировали процент спор, обработанных с помощью РМР, с красной цитоплазмой по сравнению с контрольными обработками с помощью только PBS и красителя РКН26.

*в) Обработка *S. sclerotiorum* раствором РМР из апопласта растения рода *Arabidopsis in vitro**

Чтобы определить эффект обработки с помощью РМР в отношении прорастания спор грибов, ~ 1500 аскоспор *S. sclerotiorum* инкубировали с 4% сахарозой и 0 (отрицательный контроль), 1, 10, 50, 100 или 250 мкг/мл РМР в конечном объеме 20 мкл на микропрепаратах с применением стандартных протоколов, как описано Regente et al, J of Exp. Biol. 68(20): 5485-5496, 2017. После 16 ч. инкубации при 25°C и 100% относительной влажности предметные стекла оценивали в отношении наличия и морфологии гиф с применением оптической микроскопии высокого разрешения. Длину гиф регистрировали с помощью масштабной линейки и определяли относительный рост после обработки с помощью РМР по сравнению с отрицательным контролем. Для

определения гибели грибов добавляли краситель Evans Blue до конечной концентрации 0,05% вес/об. и инкубировали в течение 10 мин. при комнатной температуре перед микроскопическим исследованием (гриб считается мертвым, если он становится синим). Для определения жизнеспособности грибов добавляли пропидия йодид (PI) до конечной концентрации 50 мкг/мл и осуществляли наблюдение под флуоресцентным микроскопом (гриб считается жизнеспособным при положительном (красном) окрашивании на PI). Определяли относительную жизнеспособность при обработке с помощью РМР по сравнению с не обработанным контролем.

с) Обработка *S. sclerotiorum* раствором РМР из апопласта растения рода *Arabidopsis in planta*

Для определения эффекта *in planta* РМР из апопласта, примененного наружно, в отношении роста грибов, четырехнедельные растения *Arabidopsis thaliana* Col-0 опрыскивали с помощью РМР из апопласта растения рода *Arabidopsis* при концентрациях РМР от 0 (отрицательный контроль) до 1, 10, 50, 100 или 250 мкг/мл, составленных в 10 мл стерильной воды, за 2 дня, 1 день и 2 часа до поражения грибковой инфекцией.

Листья растений инфицировали *S. sclerotiorum* путем применения одной капли объемом 20 мкл или путем инокуляции всего растения с помощью распыления с применением 2×10^5 *S. sclerotiorum*, как описано в Weiberg et al Science. 342(6154):118-123, 2013.

Через один, два, три и пять дней после первоначального заражения заболевание оценивали путем измерения размера поражения и применяли ПЦР-анализ ДНК в реальном времени для количественной оценки роста *S. sclerotiorum* по сравнению с биомассой листьев *Arabidopsis thaliana*, как описано Ross and Somssich, Plant Methods. 12(1):48, 2016. Собирали ДНК из 6 листьев из 6 отдельных растений и ДНК экстрагировали с помощью набора FastDNA SPIN для почвы (MP Biomedicals) в соответствии с инструкциями производителя. Для qPCR-анализа 33 нг ДНК смешивали с 0,4 мМ ген-специфических праймеров: биомасса гриба *S. sclerotiorum* (AF342243, Reich et al., Letters in Applied Microbiology. 62(5): 379-385, 2016): смысловая CСТАСАТТСТАСТТГАТСТАГТА, антисмысловая GTTGGTAGTTGTGGGTTA; биомасса растения рода *Arabidopsis* (At4g26410, Ross and Somssich, Plant Methods. 12(1):48, 2016), смысловая GAGCTGAAGTGGCTTCCATGAC, антисмысловая GGTCCGACATACCCATGATCC), и qPCR выполняли с применением PowerUp™ SYBR™ Green Master Mix (Thermo Scientific) с тремя техническими повторностями в соответствии со следующим протоколом: денатурация при 95°C в течение 3 мин., 40 повторов при 95°C в течение 20 с, 61°C в течение 20 с и 72°C в течение 15 с.

Количество продукта ПЦР грибкового происхождения, нормализовали по количеству продукта ПЦР растительного происхождения. Эффект *in planta* РМР из апопласта растения рода *Arabidopsis* в отношении роста грибов определяли путем вычисления значения $\Delta\Delta C_t$, предусматривающего сравнение нормализованного значения уровня роста гриба в отрицательном контроле, представляющем собой PBS, с

нормализованным значением уровня роста грибов в образцах для обработки с помощью РМР.

Пример 6. Обработка бактерии пакетами-мессенджерами растений

В этом примере продемонстрирована способность очищенных РМР из апопласта из растения, такого как розетки *Arabidopsis thaliana*, захватываться бактериями и снижать приспособленность патогенной бактерии, например *Pseudomonas syringae*, путем непосредственной обработки бактерии или распыления раствора РМР из апопласта на листья растения рода *Arabidopsis* перед подверганием воздействию бактерий. В этом примере растение рода *Arabidopsis* применяли в качестве модельного растения, а *P. syringae* - в качестве модельного бактериального патогена.

Заболевания растений, вызываемые бактериальными патогенами, вызывают значительные потери урожая во всем мире. Например, широкий спектр патогенных бактерий, таких как *Pseudomonas syringae* и *Xanthomonas campestris*, представляет серьезную угрозу для мирового растениеводства. Обработка бактерицидами необходима для сохранения здоровых сельскохозяйственных культур и получения надежных и высококачественных урожаев.

Схема обработки

Раствор РМР из апопласта растения рода *Arabidopsis* составляли с 0 (отрицательный контроль), 1, 10, 50, 100 или 250 мкг белка РМР/мл в 10 мл стерильной воды.

а) Мечение РМР из апопласта липофильным красителем для мембран

РМР из апопласта *Arabidopsis thaliana* получали, как описано в **примерах 1-2**, и метили с помощью РКН26 (Sigma) в соответствии с протоколом производителя, с некоторыми модификациями. Вкратце, 50 мг РМР разбавляли в 1 мл разбавленного С набора для мечения РКН26, смешивали с 2 мл 1 мМ РКН26 и инкубировали при 37°C в течение 5 мин. Мечение останавливали добавлением 1 мл 1% BSA. Весь не присоединенный в виде метки краситель смывали путем центрифугирования при 150000 g в течение 90 мин., и меченые осадки РМР ресуспендировали в стерильной воде, и анализировали, как описано в **примере 3**.

*б) Захват РМР из апопласта *P. syringae**

Pseudomonas syringae pv. *tomato* str. Бактерии DC3000 получали из ATCC (№ ВАА-871) и выращивали на агаризованной среде Кинга В с 50 мг/мл рифампицина в соответствии с инструкциями производителя. Для определения уровня захвата РМР аскоспорами *P. syringae* 10 мкл из 1 мл бактериальной суспензии, полученной в течение ночи, инкубировали непосредственно с 0 (отрицательный контроль), 1, 10, 50, 100 или 250 мкг/мл РМР из апопласта, меченых с помощью РКН26, на предметных стеклах. В дополнение к контролю, представляющему собой воду,, бактерии *P. syringae* инкубировали в присутствии красителя РКН26 (конечная концентрация 5 мкг/мл). После инкубации в течение 5 мин., 30 мин. и 1 ч. при комнатной температуре получали изображения на флуоресцентном микроскопе высокого разрешения. РМР из апопласта

захвачены бактериями, если цитоплазма бактерий становится красной по сравнению с таковой при окрашивании клеточной мембраны исключительно красителем РКН26. Регистрировали процент бактерий, обработанных с помощью РКН26-РМР, с красной цитоплазмой по сравнению с контрольными обработками с помощью только PBS и красителя РКН26, для определения уровня захвата РМР.

c) Обработка *P. syringae* раствором РМР из апопласта растения рода *Arabidopsis* in vitro

Способность РМР из апопласта растения рода *Arabidopsis* влиять на рост *P. syringae* определяли, как описано Hoefler et al. Cell Chem. Bio. 24(10):1238-1249, 2017. Вкратце, культуры *P. syringae* в стационарной фазе концентрировали до $OD_{600}=4$ центрифугированием и ресуспендированием в среде. 1,5 мл концентрированной культуры *P. syringae* смешивали с 4,5 мл агара и равномерно распределяли по планшету с агаром объемом 25 мл. После отверждения 3 мкл РМР в концентрации 0 (отрицательный контроль), 1, 10, 50, 100 или 250 мкг/мл наносили на верхний слой и давали высохнуть. Планшеты инкубировали в течение ночи, фотографировали и сканировали. Измеряли диаметр литической зоны (области без бактерий) вокруг области, на которую наносили РМР. Литические зоны, полученные при обработке контролем и РМР, сравнивали для определения бактерицидного эффекта РМР из апопласта растения рода *Arabidopsis*.

d) Обработка *P. syringae* раствором РМР из апопласта растения рода *Arabidopsis* in planta

Для определения эффекта in planta примененного наружно РМР из апопласта в отношении роста бактерий, четырехнедельные растения *Arabidopsis thaliana* Col-0 опрыскивали с помощью РМР из апопласта растения рода *Arabidopsis* при концентрациях РМР от 0 (отрицательный контроль) до 1, 10, 50, 100 или 250 мкг/мл, составленных в 10 мл стерильной воды, за 2 дня, 1 день и 2 часа до поражения бактериальной инфекцией.

P. syringae выращивали в виде газона на агаризованной среде Кинга В в течение ночи при 30°C. Бактериальный газон соскабливали с планшета и ресуспендировали до оптической плотности 0,2 при 600 нм с применением 10 mM MgCl₂ с 0,01% Silwet L77. Растения рода *Arabidopsis* Col-0 опрыскивали бактериальным раствором или контрольным раствором, в котором отсутствовали бактерии. Пластмассовые купола помещали поверх растений на ночь для поддержания высокой влажности и снимали на следующее утро.

Через один, два, три и пять дней после первоначального заражения применяли ПЦР-анализ ДНК в реальном времени для количественной оценки роста *Pseudomonas syringae* по сравнению с биомассой листьев *Arabidopsis thaliana*, как описано Ross and Somssich, Plant Methods. 12(1):48, 2016. Собирали ДНК из 6 листьев из 6 отдельных растений и ДНК экстрагировали с помощью набора FastDNA SPIN для почвы (MP Biomedicals) в соответствии с инструкциями производителя. Для qPCR-анализа 33 нг ДНК смешивали с 0,4 mM ген-специфических праймеров (биомасса бактерий *P. syringae*: смысловая ААСТGAAAAACACCTTGGGC, антисмысловая CCTGGGTTGTTGAAGTGGTA (NC_004578.1); биомасса растения рода *Arabidopsis*:

белок, экспрессируемый *A. thaliana*, At4g26410, смысловая GAGCTGAAGTGGCTTCCATGAC, антисмысловая GGTCCGACATACCCATGATCC), и qPCR выполняли с применением PowerUp™ SYBR™ Green Master Mix (Thermo Scientific) с тремя техническими повторностями в соответствии со следующим протоколом: денатурация при 95°C в течение 3 мин., 40 повторов при 95°C в течение 20 с, 61°C в течение 20 с и 72°C в течение 15 с.

Количество продукта ПЦР бактериального происхождения нормализовали по количеству продукта ПЦР растительного происхождения. Эффект *in planta* РМР из апопласта растения рода *Arabidopsis* в отношении роста бактерий определяли путем вычисления значения $\Delta\Delta C_t$, предусматривающего сравнение нормализованного значения уровня роста бактерий в отрицательном контроле с нормализованным ростом бактерий в образцах, обработанных с помощью РМР.

Пример 7. Обработка сокососущего насекомого пакетами-мессенджерами растений

В этом примере продемонстрирована способность уничтожать или снижать приспособленность тлей путем обработки их растворами РМР из апопласта, полученных из растения, такого как розетки *Arabidopsis thaliana*. Насекомое могло быть обработано непосредственно или путем распыления раствора на листья сельскохозяйственной культуры до заражения тлями. В этом примере тлей применяли в качестве модельного организма сокососущих насекомых.

Тли являются одними из наиболее важных насекомых-вредителей в сельском хозяйстве. Они причиняют растению непосредственный вред в результате кормления на нем и выступают в качестве переносчиков вирусов растений. Помимо этого, медвяная падь тлей способствует росту плесневых налетов и привлекает вредоносных муравьев. Применение средств химической обработки приводит к отбору устойчивых особей, уничтожение которых становится все более сложным.

Схема обработки

Раствор РМР из апопласта растения рода *Arabidopsis* составляли с 0 (отрицательный контроль), 1, 10, 50, 100 или 250 мкг белка РМР/мл в 10 мл стерильной воды или PBS.

Схема эксперимента

а) Выращивание тлей

Для подготовки к обработке тлей выращивали в лабораторных условиях и среде. В комнате с контролируемым климатом (фотопериод с 16 ч. света; 60±5% RH; 20±2°C) растения конских бобов выращивали в смеси вермикулита и перлита при 24°C при 16 ч. света и 8 ч. темноты. Для ограничения материнских эффектов или различий в состоянии здоровья между растениями, 5-10 взрослых особей из разных растений распределяли среди 10 двухнедельных растений и оставляли размножаться до высокой плотности в течение 5-7 дней. Для экспериментов тлей второй и третьей возрастной стадий собирали на здоровых растениях и разделяли по видам обработки таким образом, что для каждого вида обработки получали примерно одинаковое количество особей с каждого из растений

коллекции.

b) Обработка личинок третьей возрастной стадии с помощью РМР из апопласта растения рода *Arabidopsis*

Для каждой повторности обработки 30-50 тлей второй и третьей возрастной стадий помещали отдельно в лунки 96-луночного планшета, и планшет со съедобным саше переворачивали над ними, что давало возможность насекомым питаться через парафильм, при этом ограничивая их отдельными лунками. Экспериментальных тлей содержали при тех же условиях окружающей среды, что и колонии тлей. После того, как тлей вскармливали в течение 24 ч., съедобное саше заменяли новым, содержащим стерильный искусственный рацион или стерильный искусственный рацион, дополненный РМР из апопласта в концентрации 1, 10, 50, 100 или 250 мкг/мл, и новое стерильное саше предоставляли каждые 24 часа в течение четырех дней. Когда саше заменяли, тлей также проверяли в отношении уровня смертности. Тлю считали мертвой, если она становилась коричневой или располагалась на дне лунки и не двигалась во время наблюдения. Если тля находилась на парафильме со съедобным саше, но не двигалась, она считалась кормящейся и живой.

Уровень выживаемости тлей, обработанных раствором РМР, сравнивали с таковым у тлей, обработанных отрицательным контролем. Стадии развития и размеры тлей также ежедневно регистрировали, чтобы отслеживать любую задержку в развитии.

c) Обработка тлей раствором РМР из апопласта растения рода *Arabidopsis in planta*

Чтобы определить эффект *in planta* наружно применяемых РМР из апопласта в отношении приспособленности тли, отбирали листья с четырехнедельных растений конских бобов и помещали в пробирки Eppendorf, содержащие растворы с концентрациями РМР от 0 (отрицательный контроль) до 1, 10, 50, 100 или 250 мкг/мл в 10 мл стерильной воды. В качестве альтернативы листья опрыскивали в соответствии с протоколом, описанным в Wang et al., Nature Plants. 2(10):16151, 2016, и давали высохнуть в течение 2 часов при к. т. Затем листья растений инфицировали 100 личинками тлей второй и третьей возрастной стадий.

Уровни выживаемости тлей, обработанных растворами РМР, сравнивали с таковыми у тлей, обработанных отрицательным контролем. Стадии развития и размеры тлей ежедневно регистрировали, чтобы отслеживать любую задержку в развитии.

Пример 8. Обработка кукурузной галловой нематоды пакетами-мессенджерами растений

В этом примере продемонстрирована способность уничтожать нематоды, например кукурузных галловых нематод рода *Meloidogyne*, или снижать их приспособленность путем обработки их раствором РМР из апопласта, выделенных из растения, такого как розетки *Arabidopsis thaliana*. В этом примере нематоды рода *Meloidogyne* применяли в качестве модельной патогенной нематоды.

Нематоды, вызывающие корневые узелки (*Meloidogyne*), цисты (*Heterodera*),

рениформы (*Rotylenchulus*) и нематоды, поражающие корни citrusовых (*Tylenchulus semipenetrans*) из типа Nematoda, представляют угрозу для сельскохозяйственного производства. Нематоды, паразитирующие на растениях, питаются живыми тканями корней растений (некоторые виды атакуют листья), используя ротовой стилет для прокалывания клеток растений и высасывания их содержимого. Нематоды вызывают симптомы, похожие на те, что вызваны дефицитом питательных веществ или воды, такие как потеря урожая, пожелтение, увядание и нарушения развития корня, вызванные непосредственным повреждением в результате питания. Кроме того, инвазия нематод, паразитирующих на растениях, часто обеспечивает путь заражения для других организмов, таких как бактерии или грибы, поскольку активность нематод приводит к созданию доступа в корень, который в противном случае был бы недоступен. Для обработки в отношении этого вредителя обычно используют химические нематоциды, такие как алдикарб, которые применяют в концентрациях, которые вызвали обеспокоенность в отношении безопасности для здоровья человека и воздействия на окружающую среду из-за широко распространенной отмены регистрации нескольких химических нематоцидов.

Схема обработки

Раствор РМР из апопласта растения рода *Arabidopsis* составляли из расчета 0 (отрицательный контроль), 1, 10, 50, 100 или 250 мкг белка РМР/мл из **примера 1а**, в 10 мл стерильной воды.

Схема эксперимента

а) Выращивание нематод рода Meliodogyne

Для приготовления к обработке семена томата высаживали в один горшок в богатую органическими веществами почву, такую как Sunshine Mix (Sun Gro Horticulture, Агавам, Массачусетс), и выдерживали в теплице при температуре от 22°C до 28°C. Приблизительно через две недели после прорастания, на стадии двух настоящих листьев, проростки по отдельности пересаживали в горшки (диаметром 10 см и глубиной 17 см), заполненные стерильной песчаной почвой, содержащей 90% песка и 10% смеси органических веществ. Растения выдерживали в теплице при температуре 22-28°C в течение двух недель.

Приблизительно 3000 нематод рода *Meliodogyne* на стадии J2 (непосредственно после их вылупления) использовали для инокуляции растения. Нематоды суспендировали в 6 мл воды. В песке вокруг корневой системы каждого растения томата с помощью карандаша проделывали три лунки глубиной примерно в половину горшка. Каждое растение инокулировали путем введения J2 в три лунки с применением пипетки. После этого лунки закрывали. Растения выдерживали в теплице при температуре 24-27°C в течение от шести до восьми недель.

б) Обработка яиц нематод рода Meliodogyne с помощью РМР из апопласта растения рода Arabidopsis

Чтобы оценить нематоцидную активность раствора РМР в отношении яиц нематод

рода *Meliodogone*, проводили тест на уровень вылупления *in vitro*. Кладки яиц нематод рода *Meliodogone* получали из инфицированных корней. Отдельные кладки яиц, содержащие в среднем 300-350 яиц, помещали в чашки Syracuse, обрабатывали 2 мл раствора РМР в концентрациях 0 (отрицательный контроль), 1, 10, 50, 100 или 250 мкг/мл и хранили при $28 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение разного времени воздействия. Подсчет количества вылупившихся из яиц молодых особей производили через 24, 48 и 72 часа. Эффект в отношении вылупления яиц определяли путем сравнения процента молодых особей, вылупившихся при обработке контролем, представляющим собой стерильную воду, с таковым после обработки с помощью РМР. Уровень вылупления яиц нематод, обработанных раствором РМР, является пониженным по сравнению с таковым в случае контроля.

с) *Обработка молодых особей нематод рода Meliodogone с помощью РМР из апопласта растения рода Arabidopsis*

Чтобы оценить нематоцидную активность раствора РМР в отношении молодых особей нематод рода *Meliodogone*, проводили тест на уровень смертности *in vitro*. Кладки яиц нематод рода *Meliodogone* собирали с инфицированных корней и инкубировали в воде в течение 3 дней обеспечения вылупления яиц. Через 3 дня 100 молодых особей второй стадии добавляли в чашки Syracuse, содержащие 2 мл растворов РМР при концентрациях 0 (отрицательный контроль), 1, 10, 50, 100 или 250 мкг/мл, и инкубировали при $28 \pm 1^\circ\text{C}$. Результаты наблюдения уровня смертности молодых особей регистрировали с интервалом 24, 48 и 72 ч. с помощью стереоскопа. После этого молодых особей, обработанных раствором РМР, переносили в дистиллированную воду и повторно осуществляли наблюдение через 24 часа, чтобы подтвердить уровень их смертности. Уровни выживаемости нематод, обработанных раствором РМР, сравнивали с таковыми у нематод, обработанных отрицательным контролем. Уровень выживаемости нематод, обработанных раствором РМР, является пониженным по сравнению с таковым в случае контроля.

Пример 9. Обработка растительоядного насекомого пакетами-мессенджерами растений

В этом примере продемонстрирована способность уничтожать растительоядное насекомое, например *Spodoptera litura*, или снижать его приспособленность путем обработки раствором РМР из апопласта, выделенных из растения, такого как розетки *Arabidopsis thaliana*. Насекомых отряда *Lepidoptera* можно обрабатывать непосредственно или путем распыления раствора РМР из апопласта растения рода *Arabidopsis* на лист сельскохозяйственной культуры до заражения вредителем. В этом примере *Spodoptera litura* применяли в качестве модельного организма для растительоядных патогенных насекомых.

S. litura представляет собой серьезного многоядного вредителя в Америке, Азии, Океании и Индии. Эти виды паразитируют на растениях благодаря активной модели питания личинок, часто оставляющих листья полностью разрушенными. Эффекты моли являются весьма катастрофическими, она уничтожает экономически важные

сельскохозяйственные культуры и полностью снижает урожайность некоторых растений. Их воздействие на многие различные возделываемые сельскохозяйственные культуры, а впоследствии и на местную сельскохозяйственную экономику, привело к серьезным усилиям по контролю вредителей.

Схема обработки

Раствор РМР из апопласта растения рода *Arabidopsis* составляли из расчета 0 (отрицательный контроль), 1, 10, 50, 100 или 250 мкг белка РМР/мл в 10 мл стерильной воды.

Схема эксперимента

а) Выращивание *Spodoptera litura* на растениях табака

Spodoptera litura поддерживали на растениях табака в течение двух последовательных поколений. Растения табака выдерживали при температуре $28 \pm 1^\circ\text{C}$ при фотопериоде 16/8 ч. (свет/темнота) при освещении люминесцентными лампами холодного белого света с интенсивностью приблизительно 1600 люкс в течение 15 дней для обеспечения прорастания семян и достаточного роста проростков с целью переноса в новую почвосмесь.

Яйца *S. litura* поставляли из Genralpest. После вылупления личинки 1-й возрастной стадии выращивали на искусственных рационах, как описано в Shu et al., *Chemosphere*. 139:441-451, 2015. Выращивание проводили в постоянных условиях: 27°C , относительная влажность 65% и при фотопериоде 12 часов темноты/12 часов света в климатической камере. Куколок и взрослых особей содержали в одинаковых условиях.

б) Обработка яиц *Spodoptera litura* с помощью РМР из апопласта растения рода *Arabidopsis*

Чтобы определить эффект РМР из апопласта в отношении развития *S. litura*, проводили тесты на уровни вылупления и смертности. Для теста на уровень вылупления отдельные кладки яиц помещали в чашки Sygacuse и обрабатывали 2 мл раствора РМР с концентрациями 0 (отрицательный контроль), 1, 10, 50, 100 или 250 мкг/мл в стерильной воде и хранили при $26 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение разного времени воздействия. Подсчет количества вылупившихся из яиц молодых особей осуществляли через 24, 48 и 72 ч.

Для теста на уровень смертности кладки яиц собирали и инкубировали в воде в течение 3 дней для того, чтобы яйца вылупились. Через 3 дня 100 молодых особей второй стадии добавляли в чашки Sygacuse, содержащие 2 мл раствора РМР в концентрациях 0 (отрицательный контроль), 1, 10, 50, 100 или 250 мкг/мл, составленного в стерильной воде, и инкубировали при $26 \pm 1^\circ\text{C}$. Результаты наблюдения уровня смертности молодых особей регистрировали с интервалом 24, 48 и 72 ч. с помощью стереоскопа. После этого молодых особей, обработанных раствором РМР, переносили в дистиллированную воду и повторно осуществляли наблюдение через 24 часа, чтобы подтвердить их смертность.

Уровни выживаемости, уровни вылупления, уровни окукливания *S. litura*, обработанных раствором РМР, сравнивали с таковыми в случае насекомых отряда *Lepidoptera*, обработанных отрицательным контролем. Уровни *S. litura*, обработанного

раствором РМР, снижались по сравнению с таковыми в контроле, при этом приспособленность находилась под отрицательным влиянием на каждой стадии развития.

с) Обработка личинок *Spodoptera litura* с помощью РМР из апопласта растения рода *Arabidopsis*

Для определения эффекта РМР из апопласта в отношении приспособленности личинок *S. litura*, сотню свежих яиц *S. litura* осторожно собирали из кладок яиц с помощью влажной щетки из верблюжьей шерсти и распределяли по 10 яиц/чашка Петри (1,0 × 5,0 см). После вылупления личинки переносили по отдельности в пластмассовые флаконы, содержащие листья табака, которые были обработаны путем распыления раствора РМР из апопласта растения рода *Arabidopsis* с концентрациями 0 (отрицательный контроль), 1, 10, 50, 100 или 250 мкг/мл за два часа до инокуляции. Свежие листья предоставляли ежедневно. Наблюдения за развитием личинок, образованием куколок, успешным появлением взрослых особей и плодовитостью регистрировали ежедневно в течение двух недель. Также регистрировали возрастную смертность на разных стадиях развития, таких как личинки, куколки и взрослые особи.

д) Обработка взрослых особей *Spodoptera litura* с помощью РМР из апопласта растения рода *Arabidopsis in planta*

Для определения эффекта РМР из апопласта в отношении приспособленности взрослых особей *S. litura*, неинфицированное 4-6-недельное растение табака опрыскивали раствором РМР из апопласта растения рода *Arabidopsis*, выделенных и очищенных, как описано в **примерах 1-2**, с концентрацией 0 (отрицательный контроль), 1, 10, 50, 100 или 250 мкг/мл. Через два часа после инокуляции распылением синхронизированных куколок *S. litura*, собранных через 48 часов после вылупления, переносили на обработанные растения и выдерживали при $26 \pm 1^\circ\text{C}$. Через 72 ч. взрослых особей удаляли с растения, подсчитывали и оценивали их приспособленность в зависимости от стадии развития - по размеру и морфологическим признакам. Затем взрослых особей переносили в деревянные клетки размером 30 × 30 × 45 см, обшитые муслиновой тканью, для оценки их плодовитости. Пять пар моли (5 самок и 5 самцов), помещенных вместе накануне ночью в клетку для спаривания, выпускали в клетку в 19.00 ч. На следующее утро молей удаляли из клетки и подсчитывали яйца, отложенные на листьях и муслиновой ткани в клетке. Каждую самку использовали только один раз, и каждый тест повторяли 5 раз. После вылупления яиц вес личинок сравнивали у насекомых, которых вскармливали различными концентрациями РМР, по сравнению с таковым в случае отрицательного контроля.

Пример 10. Обработка гриба пакетами-мессенджерами растений, загруженными короткой нуклеиновой кислотой

В этом примере продемонстрирована способность РМР доставлять короткие нуклеиновые кислоты к вредителю путем выделения липидов РМР и синтеза их с образованием везикул, содержащие короткие нуклеиновые кислоты. В этом примере РМР, загруженные короткими двухцепочечными РНК (dsRNA), использовали для обеспечения

нокдауна фактора вирулентности у патогенного гриба *Botrytis cinerea* как в растениях, так и в продуктах после сбора урожая. Это также демонстрирует, что РМР, загруженные короткой нуклеиновой кислотой, являются стабильными и сохраняют свою активность в различных условиях обработки и условиях окружающей среды. В этом примере dsRNA применяли в качестве модельной нуклеиновой кислоты, *Botrytis cinerea* применяли в качестве модельного патогенного гриба, а виноград применяли в качестве модельного плода.

Терапевтическая доза

РМР, загруженные dsRNA, составляли в воде до концентрации, которая обеспечивает эквивалент эффективной дозы dsRNA, составляющей 0, 1, 5, 10 и 20 нг/мкл, в стерильной воде.

Протокол эксперимента

а) Выделение липидов из РМР, полученных из грейпфрута

Липиды выделяли из очищенных РМР, как описано в **примере 1-2**, основанном на Xiao et al., Plant Cell, 22(5): 1463-1482, 2010. Вкратце, 3,75 мл 2:1 (об./об.) MeOH:CHCl₃ добавляли к 1 мл РМР в PBS и встряхивали на вортексе. Последовательно добавляли CHCl₃ (1,25 мл) и ddH₂O (1,25 мл) и встряхивали на вортексе. Затем смесь центрифугировали при 2000 об./мин. в течение 10 мин. при 22°C в стеклянных пробирках для разделения смеси на две фазы (водную фазу и органическую фазу). Для сбора органической фазы стеклянную пипетку вставляли через водную фазу с небольшим положительным давлением, и нижнюю фазу (органическую фазу) аспирировали и распределяли в новые стеклянные пробирки. Образцы органической фазы разделяли на аликвоты и сушили нагреванием в атмосфере азота (2 фунта на квадратный дюйм).

б) Синтез РМР из грейпфрута, загруженных с помощью dcl1/2 dsRNA

Короткие нуклеиновые кислоты загружали в РМР в соответствии с модифицированным протоколом из Wang et al, Nature Comm., 4:1867, 2013. Вкратце, очищенные РМР получали из грейпфрута в соответствии с **примером 1-2**, и липиды РМР из грейпфрута выделяли, как описано в **примере 10а**. Короткую двухцепочечную РНК (dsRNA), направленную на dcl1/2 *Botrytis cinerea*, с последовательностями, указанными в Wang et al., Nature Plants. 2(10):16151, 2016, и контроль, представляющий собой рандомизированную dsRNA, получали из IDT. РМР, загруженные dsRNA, синтезировали как из направленной dsRNA, так и из контрольной dsRNA путем смешивания липидов и коротких нуклеиновых кислот, которые сушили до образования тонкой пленки. Пленку диспергировали в PBS и обрабатывали ультразвуком с образованием загруженных липосомальных композиций. РМР очищали с применением градиента сахарозы, как описано в **примере 2**, и промывали путем ультрацентрифугирования для удаления несвязанной нуклеиновой кислоты перед использованием. Небольшую часть обоих образцов характеризовали с применением способов, описанных в **примере 3**, содержание РНК измеряли с применением набора для анализа РНК Quant-It RiboGreen, а их стабильность тестировали, как описано в **примере 4**.

с) Обработка *Botrytis cinerea* с помощью РМР из грейнфрута, загруженных dsRNA, направленно воздействующей на *dcl1/2*, для обеспечения снижения приспособленности грибов *in planta*

Для определения эффективности блокирования грибов с применением РМР, загруженных dsRNA, из **примера 10b**, растения *Arabidopsis thaliana* опрыскивали раствором РМР с эффективной дозой dsRNA, составляющей 0, 1, 5, 10 и 20 нг/мкл в стерильной воде, за 2 дня, 1 день и 2 часа до инокуляции бактериями.

Штамм *Botrytis cinerea* B05 культивировали на агаре с солодовым экстрактом (2% солодового экстракта, 1% бактопептона). Споры разводили в 1% буфере для мальтозного бульона Сабуро до конечной концентрации 10^5 спор/мл и инокулировали путем распыления на 4-6-недельные листья *Arabidopsis*, что было подготовлено на основе Wang et al., *Nature Plants*. 2(10):16151, 2016. Эффект и эффективность обработки с помощью РМР, загруженных *dcl1/2*, и 20 нг/мкл *dcl1/2* shRNA сравнивали с рандомизированными и отрицательным контролем.

Через один, три и пять дней после первоначального инфицирования заболевание оценивали путем количественного определения количества случаев нокдауна транскрипта *Vc-DCL1/2* в выделенных листьях растения рода *Arabidopsis*, с применением протокола из Wang et al., *Nature Plants*. 2(10):16151, 2016. Собранные образцы подвергали экстракции РНК с применением набора Fisher BioReagents™ SurePrep™ для очистки общей РНК растений/грибов (Fisher Scientific, Уолтем, Массачусетс), синтезу cDNA с применением обратной транскриптазы SuperScript III (Invitrogen, Карлсбад, Калифорния) и количественной оценке с помощью количественной RT-PCR. Экспрессию *Vc-DCL1* и *Vc-DCL2* в *B. cinerea* после обработки синтезированными *Vc-DCL1/2*-dsRNA измеряли с применением следующих праймеров: *Vc-DCL1*-fw ACAATCCTATCTTTTCGGAAGC, *Vc-DCL1*-rev AGACTCTTCTTCTTGAAGACAG, *Vc-DCL2*-fw GATTGTGCAAAGTCTCAACA и *Vc-DCL2*-rev ATTGGGTTTGACTATATGTCTTA.

Кроме того, применяли ПЦР-анализ ДНК в реальном времени для количественной оценки роста *B. cinerea* по сравнению с биомассой листьев *Arabidopsis thaliana*, как описано Ross and Somssich, *Plant Methods*. 12(1):48, 2016. Собирали ДНК из 6 листьев из 6 отдельных растений и ДНК экстрагировали с помощью набора FastDNA SPIN для почвы (MP Biomedicals) в соответствии с инструкциями производителя. Для qPCR-анализа 33 нг ДНК смешивали с 0,4 мМ ген-специфических праймеров (биомасса гриба *B. cinerea* (Bc3F, Suarez et al. *Plant Physiol Bioch.* 42(11):924-934, 2005): fw-GCTGTAATTTCAATGTGCAGAATCC, rev-GGAGCAA CAATTAATCGCATTTTC; биомасса растения рода *Arabidopsis* (At4g26410, Ross and Somssich, *Plant Methods*. 12(1):48, 2016), fw-GAGCTGAAGTGGCTTCCATGAC, rev-GGTCCGACATACCCATGATCC), и qPCR выполняли с применением SsoAdvanced™ Universal SYBR® Green Supermix (BioRad) с тремя техническими повторами в соответствии со следующим протоколом: денатурация при 95°C в течение 3 мин., 40 повторов при 95°C в течение 20 с, 61°C в течение 20 с и 72°C в течение 15 с.

Количество продукта ПЦР грибкового происхождения нормализовали по количеству продукта ПЦР растительного происхождения. Эффект *in planta* РМР из апопласта растения рода *Arabidopsis* в отношении роста грибов определяли путем вычисления значения $\Delta\Delta Ct$, предусматривающего сравнение нормализованного значения уровня роста грибов в отрицательном контроле, представляющем собой PBS, с нормализованным значением уровня роста грибов в образцах для обработки с помощью РМР.

d) Обработка Botrytis cinerea с помощью РМР из грейпфрута, загруженных dsRNA, направленно воздействующей на dcl1/2, для обеспечения снижения приспособленности грибов на видах винограда после сбора урожая

Для определения эффекта РМР из грейпфрута, загруженных *dcl1/2 dsRNA*, в отношении роста грибов на плодах после сбора урожая, виноград приобретали в местном супермаркете и тщательно промывали перед применением.

Виноград опрыскивали раствором РМР, загруженных с помощью *dsRNA*, с эффективной дозой *dsRNA* 0, 1, 5, 10 и 20 нг/мкл в стерильной воде или 20 нг/мкл *dcl1/2* или рандомизированной *shPНК*, за 5 дней, 3 дня, 1 день и 2 ч. до поражения грибковой инфекцией *Botrytis cinerea* путем капельной инокуляции с помощью 20 мкл 10^5 спор/мл в соответствии с Wang et al., Nature Plants. 2(10):16151, 2016. Относительные размеры поражений инфицированных образцов винограда измеряли через 5 дней после инокуляции и количественно определяли с помощью ImageJ. Относительное содержание ДНК *B. cinerea* (относительную биомассу) измеряли с помощью количественной ПЦР, как описано в **примере 10с**. Эффект и эффективность обработки с помощью РМР, загруженных *dcl1/2*, и *dcl1/2 shRNA* сравнивали с рандомизированными и отрицательным контролем.

Пример 11. Обработка насекомого пакетами-мессенджерами растений, загруженными пептидной нуклеиновой кислотой (PNA)

В этом примере продемонстрировано загрузку РМР конструкцией на основе пептидной нуклеиновой кислоты с целью обеспечения снижения приспособленности насекомых путем нокдауна гена у вредителя, например гена *Ultraspiracle (USP)* у совки травяной (*Spodoptera frugiperda*), что, как было продемонстрировано у других чешуекрылых, обеспечивало снижение жизнеспособности личинок и уровня окукливания. Этот пример также демонстрирует, что РМР, загруженные PNA, являются стабильными и сохраняют свою активность в различных условиях обработки и условиях окружающей среды. В этом примере PNA применяли в качестве модельного белка, а *Spodoptera frugiperda* применяли в качестве модельного патогенного насекомого.

Терапевтическая доза

РМР, загруженные *dsRNA*, составляли в воде до концентрации, которая обеспечивает эквивалент эффективной дозы PNA, составляющей 0, 0,1, 1, 5 и 10 мкМ, в стерильной воде.

Протокол эксперимента

a) Идентификация пептидной нуклеиновой конструкции против *Spodoptera frugiperda*

Десять PNA против белка Ultraspiracle (USP) *Spodoptera frugiperda* были разработаны и синтезированы соответствующим поставщиком. Линии клеток Sf21 и Sf9 *Spodoptera frugiperda* получали от ThermoFisher Scientific и хранили в виде суспензионной культуры в соответствии с инструкциями производителя по культивированию. PNA тестировали *in vitro* путем электропорации клеток с применением протокола, основанного на Elc et al, PLoS One. 10(3), e0119283, 2015. Уровень нокдауна USP измеряли с помощью RT-qPCR с применением зондов, разработанных соответствующим поставщиком. Для дальнейших экспериментов выбирали PNA, наиболее эффективную с точки зрения эффективности нокдауна UPS.

b) Загрузка РМР из грейпфрута пептидной нуклеиновой кислотой

РМР из грейпфрута выделяли в соответствии с **примером 1**. РМР помещали в раствор с PNA в PBS. Затем раствор обрабатывали ультразвуком, чтобы индуцировать образование пор и диффузию в РМР в соответствии с протоколом из Wang et al, Nature Comm., 4:1867, 2013. В качестве альтернативы раствор могли пропускать через липидный экструдер в соответствии с протоколом из Haney et al, J Contr. Rel., 207:18-30, 2015. В качестве альтернативы их могли подвергать электропорации в соответствии с протоколом из Wahlgren et al, Nucl. Acids. Res. 40(17):e130, 2012. Через 1 час РМР очищали с применением градиента сахарозы и промывали путем ультрацентрифугирования, как описано в **примере 2**, для удаления несвязанной нуклеиновой кислоты перед использованием.

Размер, дзета-потенциал и количество частиц измеряли с помощью способов из **примера 3**, а их стабильность тестировали, как описано в **примере 4**. PNA в РМР количественно определяли с помощью анализа сдвига электрофоретической подвижности в соответствии с протоколом в Nikraves et al, Mol. Ther., 15(8): 1537-1542, 2007. Вкратце, ДНК, антисмысловую к PNA, смешивали с PNA-РМР, обработанными детергентом, с высвобождением PNA. Комплексы PNA-ДНК прогоняли на геле и визуализировали с помощью красителя для ssDNA. Затем осуществляли количественное определение дуплексов с помощью флуоресцентной визуализации. Загруженные и незагруженные РМР сравнивали для определения эффективности загрузки.

c) Обработка *Spodoptera frugiperda* с помощью РМР из грейпфрута, загруженных PNA, для обеспечения снижения приспособленности насекомых

РМР загружали указанной выше PNA к USP и контроль, представляющий собой рандомизированную PNA, загружали в РМР в соответствии со способом, описанным выше. *Spodoptera frugiperda* приобретали у соответствующего поставщика и содержали в соответствии с инструкциями поставщика. Личинкам скармливали PNA против USP и контрольную PNA в РМР в соответствии с протоколом кормления основанного на Yang and Han, J. Integ. Ag. 13(1):115-123, 2014. Для определения эффектов измеряли уровни выживаемости и окукливания.

Пример 12. Обработка бактерии пакетами-мессенджерами растений, загруженными низкомолекулярным соединением

В этом примере продемонстрированы способы загрузки РМР низкомолекулярными соединениями, в этом варианте осуществления стрептомицином, с целью обеспечения снижения приспособленности бактерий, например *Pseudomonas syringae* pv *tomato*. *P. syringae* представляет собой класс фитопатогенных бактерий, передаваемых через семена, которые служат основным источником инокулята для многих важных заболеваний овощей. Эти бактериальные заболевания имеют экономическое значение для их соответствующих хозяев, и в большинстве случаев зараженные семена и проростки служат основным источником инокулята для эпидемий в теплице и в поле. Этот пример дополнительно демонстрирует, что применение покрытия, состоящего из РМР, загруженных стрептомицином, в отношении семян томата (*Solanum lycopersicum*) снижает приспособленность *P. syringae*. Это также демонстрирует, что РМР, загруженные низкомолекулярным соединением, являются стабильными и сохраняют свою активность в различных условиях обработки и условиях окружающей среды. В этом примере стрептомицин применяли в качестве модельного низкомолекулярного соединения, а *Pseudomonas syringae* применяли в качестве модельной патогенной бактерии.

Терапевтическая доза

РМР, загруженные низкомолекулярным соединением, составляли в воде до концентрации, которая обеспечивает эквивалент эффективной дозы стрептомицина сульфата, составляющей 0, 2,5, 10, 50, 100 и 200 мг/мл.

а) Загрузка РМР из грейпфрута низкомолекулярным соединением

РМР, полученные, как описано выше, помещали в раствор PBS с солюбилизованным стрептомицином. Раствор оставляли на 1 час при 22°C в соответствии с протоколом в Sun et al., *Mol Ther. Sep*;18(9):1606-14, 2010. В качестве альтернативы раствор обрабатывали ультразвуком, чтобы индуцировать образование пор и диффузию в экзосомы в соответствии с протоколом из Wang et al, *Nature Comm.*, 4:1867, 2013. В качестве альтернативы раствор могли пропускать через липидный экструдер в соответствии с протоколом из Haney et al, *J Contr. Rel.*, 207:18-30, 2015. В качестве альтернативы их могли подвергать электропорации в соответствии с протоколом из Wahlgren et al, *Nucl. Acids. Res.*, 40(17): e130, 2012. Через 1 час загруженные РМР очищали с применением градиента сахарозы и промывали путем ультрацентрифугирования, как описано в **примере 2**, для удаления несвязанных низкомолекулярных соединений перед использованием. РМР, загруженные стрептомицином, характеризовали по размеру и дзета-потенциалу с применением способов из **примера 3**. В небольшом количестве РМР оценивали содержание стрептомицина с применением УФ-видимого излучения при 195 нм с применением стандартной кривой. Вкратце, получали исходные растворы стрептомицина в различных концентрациях, представляющих интерес, и 100 микролитров раствора помещали в прозрачный 96-луночный планшет с плоским дном. Поглощение при 195 нм измеряли с помощью UV-V планшет-ридера. Образцы также помещали в планшет

и использовали уравнение регрессии для того, чтобы определить возможную концентрацию в соответствии со стандартом. При недостаточно высоких концентрациях использовали протокол из Kurosawa et al., J. Chromatogr., 343:379-385, 1985. для измерения содержания стрептомицина с помощью HPLC. Стабильность загруженных стрептомицином РМР тестировали, как описано в **примере 4**.

b) Обработка Pseudomonas syringae с помощью РМР из грейпфрута, загруженных стрептомицином, для обеспечения снижения приспособленности бактерий

P. syringae pv получали от ATCC и выращивали в соответствии с инструкциями производителя, как описано в **примере 6**. Эффективные концентрации стрептомицина, РМР и РМР, загруженных стрептомицином, тестировали в отношении способности предупреждать рост *P. syringae* в соответствии с протоколом, основанным на Hoeffler et al. Cell Chem. Bio. 24(10):1238-1249, 2017. Вкратце, культуры *P. syringae* в стационарной фазе концентрировали до $OD_{600}=4$ центрифугированием и ресуспендированием в среде. 1,5 мл концентрированной культуры *P. syringae* смешивали с 4,5 мл агара и равномерно распределяли по планшету с агаром объемом 25 мл. После отверждения 3 мкл РМР, загруженных стрептомицином, в концентрации, соответствующей эффективной дозе 0 (отрицательный контроль), 2,5, 10, 50, 100 или 200 мг/мл, наносили на верхний слой и давали ему высохнуть. Планшеты инкубировали в течение ночи, фотографировали и сканировали. Измеряли диаметр литической зоны (области без бактерий) вокруг области, на которую наносили РМР. Литические зоны после обработки контролем (PBS), стрептомицином, РМР и РМР, загруженными стрептомицином, сравнивали для определения бактерицидного эффекта. После отверждения эффективную дозу (микролитры) средства обработки наносили на верхний слой и давали ему высохнуть. Планшеты инкубировали в течение ночи, фотографировали и сканировали. Размер литической зоны (площадь без бактерий) измеряли для определения эффективности.

c) Обработка семян томата с помощью РМР из грейпфрута, загруженных стрептомицином, для обеспечения снижения приспособленности бактерий

Семена томата Micro-Tom (USDA), из расчета двести штук на группу, замачивали в суспензии, содержащей стрептомицин отдельно или загруженный в РМР, при эффективной дозе 0, 2,5, 10, 50, 100 или 200 мг/мл, в течение 2 часов при комнатной температуре и высевали непосредственно после замачивания. Через 1, 2 и 5 дней после инкубации семена заражали путем замачивания образцов в суспензии *P. syringae* pv. tomato, содержащей примерно 10^8 колониеобразующих единиц (КОЕ)/мл, под вакуумом в течение 30 мин. Вакуум резко отключали, чтобы способствовать проникновению болезнетворных микроорганизмов в полости семян. Относительный эффект обработок семян с помощью РМР, загруженных стрептомицином, по сравнению с обработкой отдельно стрептомицином или контролем, в отношении биомассы *P. syringae* определяли с помощью qPCR, как описано в **примере 6d**. Эффект обработок семян с помощью РМР, содержащих стрептомицин, в отношении прорастания семян томатов оценивали путем регистрации времени прорастания и скорости развития проростков в течение 3-4 недель

по сравнению с обработкой отдельно стрептомицином или по сравнению с необработанным контролем.

Пример 13. Обработка нематоды пакетами-мессенджерами растений, загруженными белком/пептидом

В этом примере продемонстрирована загрузка РМР пептидной конструкцией с целью обеспечения снижения приспособленности паразитических нематод. В этом примере продемонстрировано, что РМР, загруженные GFP, захватываются в пищеварительный тракт *C. elegans*, и что РМР, загруженные нейрпептидом Mi-NLP-15b, снижают уровень инвазии нематод *Meloidogyne incognita* в растения томата. Он также демонстрирует, что РМР, загруженные пептидом, являются стабильными и сохраняют свою активность в различных условиях обработки и условиях окружающей среды. В этом примере GFP и нематоцидный пептид Mi-NLP-15b применяли в качестве модельного пептида, а *Meloidogyne incognita* и *C. elegans* применяли в качестве модельных нематод.

Растительные паразитические нематоды (PPN) представляют серьезную угрозу для глобальной продовольственной безопасности. Традиционно интегрированный подход к управлению PPN в значительной степени опирался на нематоциды на основе карбамата, фосфорорганического соединения и фумигантные нематоциды, которые в настоящее время отменены из-за проблем, связанных с состоянием окружающей среды и безопасностью. Эта прогрессивная отмена привела к серьезному снижению нашей способности контролировать этих экономически важных паразитов и подчеркнула необходимость в новых и надежных способах контроля.

Терапевтическая доза

РМР, загруженные пептидом, составляли в воде в концентрации, обеспечивающей эквивалент эффективной дозы пептида, составляющей 0 (контроль), 1 нМ, 10 нМ, 100 нМ, 1 мкМ, 10 мкМ, 50 мкМ и 100 мкМ в стерильной воде. РМР, загруженные GFP, составляли в воде в концентрации, обеспечивающей концентрацию белка-GFP, загруженного в РМР, составляющую 0 (контроль, представляющий собой незагруженный РМР), 10, 100, 1000 мкг/мл.

Протокол эксперимента

а) Загрузка РМР из грейпфрута белком или пептидом

РМР помещали в раствор с белком или пептидом в PBS. Если белок или пептид были нерастворимы, pH корректировали, пока они не становились растворимыми. Если белок или пептид были все еще нерастворимыми, использовали нерастворимый белок или пептид. Затем раствор обрабатывали ультразвуком, чтобы индуцировать образование пор и диффузию в экзосомы в соответствии с протоколом из Wang et al, Nature Comm., 4:1867, 2013. В качестве альтернативы раствор могли пропускать через липидный экструдер в соответствии с протоколом из Haney et al, J Contr. Rel., 207:18-30, 2015. В качестве альтернативы их могли подвергать электропорации в соответствии с протоколом из Wahlgren et al, Nucl. Acids. Res. 40(17):e130, 2012. Через 1 час РМР очищали с применением градиента сахарозы и промывали путем ультрацентрифугирования, как

описано в **примере 1**, для удаления несвязанного белка перед использованием. Липосомы, полученные из РМР, характеризовали, как описано в **примере 3**, и их стабильность тестировали, как описано в **примере 4**. Для измерения уровня загрузки белка или пептида, количественный анализ пептидов Pierce использовали на небольшом образце загруженных и незагруженных РМР.

b) Обработка яиц *Meloidogyne incognita* с помощью РМР из грейпфрута, загруженных нейропептидом Mi-NLP-15b

РМР выделяли из грейпфрута в соответствии с **примером 1-2**. Нематоцидный синтетический нейропептид Mi-NLP-15b (последовательность: SFDSFTGPGFTGLD), идентифицированный в работе Warnock, PLoS Pathogens, 13(2): e1006237, 2017, был синтезирован коммерческим поставщиком. Затем пептид загружали в РМР в соответствии с описанными выше способами. Рандомизированный пептид также загружали в качестве контроля. *M. incognita* поддерживали на растениях томата, и яйца и молодых особей собирали, как описано в **примере 8**.

Чтобы оценить нематоцидную активность раствора РМР из грейпфрута, загруженных нейропептидом Mi-NLP-15b, в отношении яиц нематод *Meloidogyne*, проводили тест на уровень вылупления *in vitro*. Кладки яиц нематод рода *Meloidogyne* получали из инфицированных корней. Отдельные кладки яиц, содержащие в среднем 300-350 яиц, помещали в чашки Syracuse и обрабатывали 2 мл раствора РМР в концентрациях 0 (контроль), 1 нМ, 10 нМ, 100 нМ, 1 мкМ, 10 мкМ, 50 мкМ или 100 мкМ голого Mi-NLP-15b, рандомизированного пептида, или эффективными дозами РМР, загруженных Mi-NLP-15b, РМР, загруженных рандомизированными пептидами, или незагруженными РМР и выдерживали при температуре $28 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение разного времени воздействия. Подсчет количества появившихся из яиц молодых особей производили через 24, 48 и 72 ч. Эффект в отношении вылупления яиц определяли путем сравнения процента молодых особей, вылупившихся при обработке контролем, представляющим собой стерильную воду, с таковым при обработке с помощью РМР.

с) Обработка молодых особей *Meloidogyne incognita* с помощью РМР из грейпфрута, загруженных нейропептидом Mi-NLP-15b, in planta

M. incognita поддерживали на растениях томата, и яйца и молодых особей собирали, как описано в **примере 8**. Уровень инфекции, обусловленной *Meloidogyne incognita*, измеряли для оценки способности РМР, загруженных нейропептидом, обеспечивать снижение уровня инфекции, обусловленной нематодой, как показано Warnock, PLoS Pathogens, 13(2): e1006237, 2017. Вкратце, семена томатов проращивали на планшетах с 0,5% средой Мурасиге-Скуга и двухдневные проростки томатов обрабатывали путем распыления или замачивали с помощью 0 (контроль), 1 нМ, 10 нМ, 100 нМ, 1 мкМ, 10 мкМ, 50 мкМ и 100 мкМ голого Mi-NLP-15b, рандомизированного пептида или эффективными дозами РМР, загруженных Mi-NLP-15b, РМР, загруженных рандомизированным пептидом, или незагруженных РМР, и оставляли высыхать в течение 2 ч., 6 ч., 1 дня и 2 дней до заражения. Анализы уровня инвазии осуществляли путем

смешивания 500 предварительно обработанных *J2 M. incognita* с агаровой суспензией и одним обработанным проростком томата в 6-луночном планшете. Анализы проводили в течение 24 ч. при цикле 16 ч. света и 8 ч. темноты. Проростки окрашивали с помощью кислого фуксина, подсчитывали количество нематод в корнях и сравнивали обработки с помощью РМР, загруженных нейропептидом, с контролями. Для анализов уровня заражения использовали по меньшей мере по пять проростков на каждое состояние.

d) Доставка модельного белка нематод

РМР выделяли из грейпфрута в соответствии с **примером 1**. Зеленый флуоресцентный белок синтезировали на коммерческой основе и солюбилизировали в PBS. Затем его загружали в РМР в соответствии со способами, описанными выше, и уровень инкапсуляции GFP в РМР измеряли с помощью вестерн-блоттинга или флуоресценции. Штамм дикого типа N2 Bristol *C. elegans* (*C. elegans* Genomics Center) поддерживали на газоне *Escherichia coli* (штамм OP50) на планшетах с агаром со средой для роста нематод (NGM) (3 г/л NaCl, 17 г/л агара, 2,5 г/л пептона, 5 мг/л холестерина, 25 мМ KH_2PO_4 (pH 6,0), 1 мМ CaCl_2 , 1 мМ MgSO_4) при 20°C, от стадии L1 до L4.

Однодневных *C. elegans* переносили на новый планшет и скармливали им РМР, загруженные GFP, в концентрации 0 (контроль, представляющий собой незагруженный РМР), 10, 100, 1000 мкг/мл в жидком растворе в соответствии с протоколом кормления, описанным в Conte et al., *Curr. Protoc. Mol. Bio.*, 109:26.3.1-30 2015. Затем их исследовали под флуоресцентным микроскопом в отношении зеленой флуоресценции в пищеварительном тракте по сравнению с таковой в случае контроля, представляющего собой РМР, или контроля, представляющего собой стерильную воду.

Пример 14. Обработка растения пакетами-мессенджерами растений, загруженными гербицидом

В этом примере продемонстрировано загрузку и доставку гербицида глюфосината в РМР для обеспечения эффекта в отношении приспособленности растения. Этот пример дополнительно демонстрирует, что РМР, загруженные низкомолекулярными соединениями, являются стабильными и сохраняют свою активность в различных условиях обработки и условиях окружающей среды. В этом примере глюфосинат применяли в качестве модельного низкомолекулярного гербицида, а *Eleusine indica* применяли в качестве модельного патогенного сорняка.

Eleusine indica (L.) (элевсина индийская), один из самых серьезных сорняков в мире, является очень конкурентоспособным и космополитным видом. *Eleusine indica* плодородна, встречается в различных почвах и температурах и поражает широкий спектр сельскохозяйственных культур, включая хлопчатник, кукурузу, рис, сахарный тростник и многие плодовые и овощные сады. Эффективные и безопасные гербициды необходимы для предупреждения значительных потерь урожая из-за сорняков, одновременно защищая окружающую среду от токсичных побочных эффектов чрезмерного использования гербицидов.

Терапевтическая доза

РМР, загруженные низкомолекулярными соединениями, представляющей собой глюфосинат, составляли в воде до концентрации, которая обеспечивает эквивалент эффективной дозы глюфосината, составляющей 0, 0,25, 0,5, 1, 3 и 6 мг/мл.

Протокол эксперимента

а) Загрузка РМР из грейпфрута низкомолекулярным гербицидом, представляющим собой глюфосинат

РМР получали из грейпфрута в соответствии с **примером 1-2**. РМР помещали в раствор PBS с твердым или солюбилизированным глюфосинатом (CAS 77182-82-2, Sigma-Aldrich). Раствор оставляли на 1 час при 22°C в соответствии с протоколом в Sun et al., Mol Ther. 2010 Sep;18(9):1606-14.

В качестве альтернативы раствор обрабатывали ультразвуком, чтобы индуцировать образование пор и диффузию в экзосомы в соответствии с протоколом из Wang et al, Nature Comm., 4:1867, 2013. В качестве альтернативы раствор могли пропускать через липидный экструдер в соответствии с протоколом из Haney et al, J Contr. Rel., 207:18-30, 2015. В качестве альтернативы их могли подвергать электропорации в соответствии с протоколом из Wahlgren et al, Nucl. Acids. Res. 40(17):e130, 2012. Через 1 час загруженные РМР очищали с применением градиента сахарозы и промывали путем ультрацентрифугирования, как описано в **примере 2**, для удаления несвязанных низкомолекулярных соединений перед использованием. РМР, загруженные глюфосинатом, характеризовали по размеру и дзета-потенциалу с применением способов из **примера 3**.

Для количественной оценки уровня инкапсуляции глюфосината РМР, загруженные глюфосинатом, разлагали с применением метода Блая и Дейера, при этом глюфосинат растворялся в верхней фазе. Глюфосинат определяли с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с обнаружением посредством диодной матрицы (HPLC-DAD) в соответствии со способом, описанным в Changa et al, Journal of the Chinese Chemical Society, 52(4): 785-792, 2005. Вкратце, 9-флуоренилметилхлорформат (FMOС-Cl) использовали для предколоночной дериватизации не поддающегося абсорбции глюфосината. Образцы разделяли с помощью HPLC-DAD через 12 мин. с 25 мМ боратным буфером при рН 9 с последующим определением с помощью УФ-детектора при 260 нм.

б) Обработка сорняка, представляющего собой элевсину индийскую, с помощью РМР, загруженных глюфосинатом

Гербицидный эффект обработки глюфосинатом измеряли у сорняка, представляющего собой элевсину индийскую (*Eleusine indica*). Семена *Eleusine indica* проращивали на отвержденном в воде 0,6% агаре, содержащем 0,2% нитрата калия (KNO₃) (Ismail et al., Weed Biology and Management, 2(4):177-185, 2002). На стадии 3-5 листьев проростки подвергали различным обработкам с помощью глюфосината путем опрыскивания всего растения с помощью глюфосината в концентрации 0 (отрицательный контроль), 0,25, 0,5, 1, 3 или 6 мг/мл или РМР, загруженных глюфосинатом, в

концентрации 0 (контроль, представляющий собой незагруженный РМР), 0,25, 0,5, 1, 3 или 6 мг/мл, из расчета 1 мл раствора на растение, по 3 растения на группу. Активность глюфосината оценивали фенотипически (признаки хлороза и увядания, некроза, гибели растений) в дни 22 и 35 после обработки. В день 35 надземные побеги собирали и сушили в печи (65°C) в течение 3 дней для измерения сухой массы, и сравнивали обработки с помощью РМР, загруженных глюфосинатом, с контролями, представляющими собой только РМР и только контроль глюфосината.

Пример 15. Получение РМР из смешанных фруктовых соков с применением ультрацентрифугирования и очистки в градиенте сахарозы

В этом примере продемонстрировано, что РМР можно получать из плодов путем измельчения-смешивания плодов и использования комбинации последовательного центрифугирования для удаления остатков, ультрацентрифугирования для осаждения неочищенных РМР и использования градиента плотности сахарозы для очистки РМР. В этом примере грейпфрут применяли в качестве модельного плода.

а) Получение РМР из грейпфрута с помощью ультрацентрифугирования и очистки в градиенте плотности сахарозы

Производственный процесс для получения РМР из грейпфрута с применением измельчителя, ультрацентрифугирования и очистки в градиенте сахарозы показан на фиг. 1А. Один красный грейпфрут приобретали в магазине сети Whole Foods Market®, и альbedo, флаведо и сегментные мембраны удаляли для сбора соковых мешочков, которые гомогенизировали с применением измельчителя на максимальной скорости в течение 10 минут. 100 мл сока разбавляли 5х с помощью PBS с последующим центрифугированием при 1000х g в течение 10 минут, 3000х g в течение 20 минут и 10000х g в течение 40 минут с удалением крупных остатков. 28 мл очищенного сока ультрацентрифугировали на ультрамикрочентрифуге Sorvall™ MX 120 Plus при 150000х g в течение 90 минут при 4°C с применением ротора с поворотным ковшом S50-ST (4×7 мл) для получения осадка неочищенных РМР, который ресуспендировали в PBS pH 7,4. Затем готовили градиент сахарозы в Tris-HCl pH 7,2, неочищенные РМР наслаивали поверх градиента сахарозы (сверху вниз: 8, 15, 30, 45 и 60% сахарозы) и ультрацентрифугировали при 150 000х g в течение 120 минут при 4°C с применением ротора с поворотным ковшом S50-ST (4×7 мл). Собирали фракции по 1 мл и выделяли РМР на границе раздела 30-45%. Фракции промывали с помощью PBS путем ультрацентрифугирования при 150 000х g в течение 120 минут при 4°C, и осадки растворяли в минимальном количестве PBS.

Концентрацию РМР (1×10^9 РМР/мл) и медианный размер РМР (121,8 нм) определяли с помощью анализатора частиц Spectradyne nCS1™ с применением картриджа TS-400 (фиг. 1В). Дзета-потенциал определяли с применением Zetasizer Ultra от Malvern и он составлял -11,5 +/- 0,357 мВ.

В этом примере продемонстрировано, что РМР из грейпфрута можно выделять с помощью ультрацентрифугирования в комбинации с методами очистки в градиенте сахарозы. Однако этот способ вызывал значительное гелеобразование в образцах на всех

этапах получения РМР и в конечном растворе РМР.

Пример 16. Получение РМР из прессованных на сетке фруктовых соков с применением ультрацентрифугирования и очистки в градиенте сахарозы

В этом примере продемонстрировано, что уровень контаминантов, представляющих собой клеточную стенку и клеточную мембрану, можно уменьшать в процессе получения РМР посредством применения более мягкого процесса отжима сока (сетчатый фильтр). В этом примере грейпфрут применяли в качестве модельного плода.

а) Мягкий отжим сока снижает гелеобразование во время получения РМР из РМР из грейпфрута.

Соковые мешочки выделяли из красного грейпфрута, как описано в **примере 15**. Чтобы уменьшить гелеобразование во время получения РМР, вместо использования разрушающего способа измельчения-смешивания соковые мешочки осторожно прижимали к сетке ситечка для чая для сбора сока и уменьшения уровня контаминантов, представляющих клеточную стенку и клеточную мембрану. После дифференциального центрифугирования сок был более прозрачным, чем после использования измельчителя, и после центрифугирования в градиенте плотности сахарозы наблюдали одну чистую полосу сахарозы, содержащую РМР, на пересечении 30-45% (фиг. 2). В целом во время и после получения РМР уровень гелеобразования был меньшим.

Данные авторов настоящего изобретения показывают, что использование стадии мягкого отжима сока обеспечивало снижение уровня гелеобразования, вызванного контаминантами во время получения РМР, по сравнению со способом, предусматривающим измельчение-смешивание.

Пример 17. Получение РМР с применением ультрацентрифугирования и эксклюзионной хроматографии

В этом примере описано получение РМР из плодов с применением ультрацентрифугирования (UC) и эксклюзионной хроматографии (SEC). В этом примере грейпфрут применяли в качестве модельного плода.

а) Получение РМР из грейпфрута с применением UC и SEC

Соковые мешочки выделяли из красного грейпфрута, как описано в **примере 15а**, и осторожно прижимали к сетке сита для чая для сбора 28 мл сока. Производственный процесс получения РМР из грейпфрута с применением UC и SEC изображен на фиг. 3А. Вкратце, сок подвергали дифференциальному центрифугированию при 1000x g в течение 10 минут, 3000x g в течение 20 минут и 10000x g в течение 40 минут с удалением крупных остатков.

28 мл очищенного сока ультрацентрифугировали на ультрамикроцентрифуге Sorvall™ MX 120 Plus при 100000x g в течение 60 минут при 4° C с применением ротора с поворотным ковшом S50-ST (4×7 мл) для получения осадка неочищенных РМР, который ресуспендировали в буфере MES (20 mM MES, NaCl, pH 6). После двукратной промывки осадков буфером MES конечный осадок ресуспендировали в 1 мл PBS, pH 7,4. Затем авторы настоящего изобретения применяли эксклюзионную хроматографию, чтобы

элюировать фракции, содержащие РМР. Фракции, полученные в результате элюирования в ходе SEC, анализировали с помощью нанопоточной цитометрии с помощью NanoFCM для определения размера и концентрации РМР с применением стандартов концентрации и размеров, предоставленных производителем. Кроме того, для фракций, полученных в ходе SEC, определяли оптическую плотность при 280 нм (SpectraMax®) и концентрацию белка (BCA-анализ Pierce™, ThermoFisher), чтобы определить, в каких фракциях элюируются РМР (фиг. 3В-3D). Фракции 2-4, полученные в ходе SEC, идентифицировали как фракции, содержащие РМР. Анализ ранее и позднее элюирующихся фракций, показал, что фракция 3, полученные в ходе SEC, является основной фракцией, содержащей РМР, с концентрацией $2,83 \times 10^{11}$ РМР/мл (57,2% всех частиц в диапазоне размеров 50-120 нм) с медианным значением размера 83,6 нм +/- 14,2 нм (SD). Хотя поздно элюирующиеся фракции 8-13 характеризовались очень низкой концентрацией частиц, как показано с помощью NanoFCM, в этих фракциях с помощью ВСА-анализа обнаруживали белковые контаминанты.

Данные авторов настоящего изобретения показывают, что TFF и SEC можно использовать для отделения очищенных РМР от поздно элюирующихся контаминантов, и что комбинация способов анализа, применяемая в данном документе, позволяла идентифицировать фракции РМР из поздно элюирующихся контаминантов.

Пример 18. Промышленное получение РМР с применением фильтрации в тангенциальном потоке и эксклюзионной хроматографии в комбинации с EDTA/диализом для снижения уровня контаминантов

В этом примере описано масштабированное получение РМР из плодов с применением фильтрации в тангенциальном потоке (TFF) и эксклюзионной хроматографии (SEC) в комбинации с инкубацией с EDTA для уменьшения образования макромолекул пектина и диализом в течение ночи для снижения уровня контаминантов. В этом примере грейпфрут применяли в качестве модельного плода.

а) Получение РМР из грейпфрута с применением TFF и SEC

Красные грейпфруты приобретали в магазине сети Whole Foods Market®, и 1000 мл сока выделяли с применением соковыжималки. Производственный процесс получения РМР из грейпфрута с применением TFF и SEC изображен на фиг. 4А. Сок подвергали дифференциальному центрифугированию при 1000x g в течение 10 минут, 3000x g в течение 20 минут и 10000x g в течение 40 минут с удалением крупных остатков. Очищенный грейпфрутовый сок концентрировали и один раз промывали с применением TFF (размер пор 5 нм) до 2 мл (100x). Затем авторы настоящего изобретения применяли эксклюзионную хроматографию, чтобы элюировать фракции, содержащие РМР. Фракции, полученные в результате элюирования в ходе SEC, анализировали с помощью нанопоточной цитометрии с помощью NanoFCM для определения концентрации РМР с применением стандартов концентрации и размеров, предоставленных производителем. Кроме того, для фракций, полученных в ходе SEC, определяли концентрацию белка (BCA-анализ Pierce™, ThermoFisher) для определения фракций, в которых элюировались

РМР. В ходе масштабированного получения при концентрировании из 1 литра сока (концентрированного в 100 раз) также получили большое количество контаминантов в поздних фракциях, полученных в ходе SEC, как можно было обнаружить с помощью ВСА-анализа (фиг. 4В, верхняя панель). Суммарный общий выход РМР (фиг. 4В, нижняя панель) был ниже при масштабированном получении по сравнению с выделением из отдельного грейпфрута, что могло указывать на потерю РМР.

b) Снижение уровня контаминантов за счет инкубации с EDTA и диализа

Красные грейпфруты приобретали в магазине сети Whole Foods Market®, и 800 мл сока выделяли с применением соковыжималки. Сок подвергали дифференциальному центрифугированию при 1000x g в течение 10 минут, 3000x g в течение 20 минут и 10000x g в течение 40 минут с удалением крупных остатков, и фильтровали через фильтр с размером пор 1 мкм и 0,45 мкм с удалением крупных частиц. Очищенный грейпфрутовый сок разделяли на 4 различные группы обработки, каждая из которых содержала 125 мл сока. Группу обработки 1 обрабатывали, как описано в **примере 18а**, концентрировали, промывали (PBS) до конечной концентрации 63x и подвергали SEC. Перед TFF 475 мл сока инкубировали с EDTA в конечной концентрации 50 mM, pH 7,15 в течение 1,5 часа при к. т. для обеспечения хелатирования железа и уменьшения уровня образования макромолекул пектина. После этого сок разделяли на три группы обработки, которые подвергали концентрированию посредством TFF с промывкой с помощью либо PBS (без кальция/магния) pH 7,4, либо MES pH 6, либо Tris pH 8,6 до конечной концентрации сока 63X. Затем образцы подвергали диализу в том же промывочном буфере в течение ночи при 4°C с применением мембраны на 300 кДа и подвергали SEC. По сравнению с пиком с высоким содержанием примесей во фракциях позднего элюирования в контроле с обработкой посредством только TFF, инкубация с EDTA с последующим диализом в течение ночи приводила к значительному снижению уровня контаминантов, о чем свидетельствовала оптическая плотность при 280 нм (фиг. 4С) и ВСА-анализ белка (фиг. 4D), который чувствителен к присутствию сахаров и пектинов. Не было разницы в используемых буферах для диализа (PBS без кальция/магния, pH 7,4, MES pH 6, Tris pH 8,6).

Данные авторов настоящего изобретения показывают, что инкубация с EDTA с последующим диализом снижала количество контаминантов, совместно получаемых при очистке, облегчая масштабированное получение РМР.

Пример 19. Стабильность РМР

В этом примере продемонстрировано, что РМР являются стабильными в различных условиях окружающей среды. В этом примере РМР из грейпфрута и лимона использовали в качестве модельных РМР.

a) Получение РМР из грейпфрута с применением TFF в комбинации с SEC

Красные органические грейпфруты (Флорида) приобретали в магазине сети Whole Foods Market®. Схема получения РМР изображена на фиг. 5А. Один литр грейпфрутового сока собирали с применением соковыжималки и затем центрифугировали при 3000× g в

течение 20 минут, а затем при $10000\times g$ в течение 40 минут для удаления крупных остатков. Затем добавляли 500 мМ EDTA, pH 8,6, до конечной концентрации 50 мМ EDTA, pH 7, и раствор инкубировали в течение 30 минут для обеспечения хелатирования кальция и предупреждения образования макромолекул пектина. Впоследствии сок пропускали через фильтры с размерами пор 11 мкм, 1 мкм и 0,45 мкм для удаления крупных частиц. Отфильтрованный сок концентрировали и промывали (500 мл PBS) посредством фильтрации в тангенциальном потоке (TFF) (размер пор 5 нм) до 400 мл (2,5x) и подвергали диализу в течение ночи в PBS, pH 7,4 (с одной заменой среды) с применением мембраны для диализа на 300 кДа для удаления контаминантов. Затем сок, подвергнутый диализу, дополнительно концентрировали посредством TFF до конечной концентрации, содержащейся в 50 мл (20x). Затем авторы настоящего изобретения применяли эксклюзионную хроматографию, чтобы элюировать фракции, содержащие РМР, которые анализировали в отношении оптической плотности при 280 нм (SpectraMax®) и подвергали анализу концентрации белка (BCA-анализ Pierce™, ThermoFisher) для подтверждения фракций, содержащих РМР, и поздних фракций, содержащих контаминанты (фиг. 5В и 5С). Фракции 4-6, полученные в ходе SEC, содержащие очищенные РМР (фракции 8-14 содержали контаминанты), объединяли вместе и стерилизовали фильтрованием путем последовательной фильтрации с применением шприцевых фильтров с размером пор 0,8 мкм, 0,45 мкм и 0,22 мкм. Конечную концентрацию РМР ($1,32\times 10^{11}$ РМР/мл) и медианный размер РМР (71,9 нм +/- 14,5 нм) в объединенных стерилизованных фракциях, содержащих РМР, определяли с помощью NanoFCM с применением стандартов концентрации и размера, предоставленных производителем (фиг. 5F).

b) Получение РМР из лимона с применением TFF в комбинации с SEC

Лимоны приобретали в магазине сети Whole Foods Market®. Один литр лимонного сока собирали с помощью соковыжималки и затем центрифугировали при $3000\times g$ в течение 20 минут, а затем при $10000\times g$ в течение 40 минут для удаления крупных остатков. Затем добавляли 500 мМ EDTA, pH 8,6, до конечной концентрации 50 мМ EDTA, pH 7, и раствор инкубировали в течение 30 минут для обеспечения хелатирования кальция и предупреждения образования макромолекул пектина. Впоследствии сок пропускали через фильтр для кофе, фильтры с размером пор 1 мкм и 0,45 мкм для удаления крупных частиц. Отфильтрованный сок концентрировали посредством фильтрации в тангенциальном потоке (TFF) (размер пор 5 нм) до 400 мл (концентрированный в 2,5 раз) и подвергали диализу в течение ночи в PBS, pH 7,4, с применением мембраны для диализа на 300 кДа для удаления контаминантов. Затем сок, подвергнутый диализу, дополнительно концентрировали посредством TFF до конечной концентрации, содержащейся в 50 мл (20x). Затем авторы настоящего изобретения применяли эксклюзионную хроматографию, чтобы элюировать фракции, содержащие РМР, которые анализировали в отношении оптической плотности при 280 нм (SpectraMax®) и подвергали анализу концентрации белка (BCA-анализ Pierce™, ThermoFisher).

ThermoFisher) для подтверждения фракций, содержащих РМР, и поздних фракций, содержащих контаминанты (фиг. 5D и 5E). Фракции 4-6, полученные в ходе SEC, содержащие очищенные РМР (фракции 8-14 содержали контаминанты), объединяли вместе и стерилизовали фильтрованием путем последовательной фильтрации с применением шприцевых фильтров с размером пор 0,8 мкм, 0,45 мкм и 0,22 мкм. Конечную концентрацию РМР ($2,7 \times 10^{11}$ РМР/мл) и медианный размер РМР (70,7 нм +/- 15,8 нм) в объединенных стерилизованных фракциях, содержащих РМР, определяли с помощью NanoFCM с применением стандартов концентрации и размера, предоставленных производителем (фиг. 5G).

c) Стабильность РМР из грейпфрута и лимона при 4°C

РМР из грейпфрута и лимона получали, как описано в **примерах 19а** и **19b**. Стабильность РМР оценивали путем измерения концентрации общих РМР (РМР/мл) в образце с течением времени с применением NanoFCM. Исследование стабильности проводили при 4°C в течение 46 дней в темноте. Аликвоты РМР хранили при 4°C и анализировали с помощью NanoFCM в предварительно определенные дни. Анализировали концентрации общих РМР в образце (фиг. 5H). Относительная измеренная концентрация РМР из лимона и грейпфрута на промежутке времени между исходной и конечной точкой эксперимента через 46 дней составляла 119% и 107% соответственно. Данные авторов настоящего изобретения показали, что РМР являются стабильными в течение по меньшей мере 46 дней при 4°C.

d) Стабильность при РМР из лимона замораживании-размораживании

Для определения стабильности РМР при замораживании-размораживании РМР из лимона получали из органических лимонов, приобретенных в магазине сети Whole Foods Market®. Один литр лимонного сока собирали с помощью соковыжималки и затем центрифугировали при 3000× g в течение 20 минут, а затем при 10000× g в течение 40 минут для удаления крупных остатков. Затем добавляли 500 мМ EDTA, pH 8,6, до конечной концентрации 50 мМ EDTA, pH 7,5, и инкубировали в течение 30 минут для обеспечения хелатирования кальция и предупреждения образования макромолекул пектина. Впоследствии сок пропускали через фильтры с размером пор 11 мкм, 1 мкм и 0,45 мкм для удаления крупных частиц. Отфильтрованный сок концентрировали и промывали с помощью 400 мл PBS, pH 7,4 посредством фильтрации в тангенциальном потоке (TFF) (размер пор 5 нм) до конечного объема 400 мл (концентрированный в 2,5 раз) и подвергали диализу в течение ночи в PBS, pH 7,4, с применением мембраны для диализа на 300 кДа для удаления контаминантов. Затем сок, подвергнутый диализу, дополнительно концентрировали посредством TFF до конечной концентрации 60 мл (~17x). Затем авторы настоящего изобретения применяли эксклюзионную хроматографию, чтобы элюировать фракции, содержащие РМР, которые анализировали в отношении оптической плотности при 280 нм (SpectraMax®) и подвергали анализу концентрации белка (BCA-анализ Pierce™, ThermoFisher) для подтверждения фракций, содержащих РМР, и поздних фракций, содержащих контаминанты. Фракции 4-6,

полученные в ходе SEC, содержащие очищенные РМР (фракции 8-14 содержали контаминанты), объединяли вместе и стерилизовали фильтрованием путем последовательной фильтрации с применением шприцевых фильтров с размером пор 0,8 мкм, 0,45 мкм и 0,22 мкм. Конечную концентрацию РМР ($6,92 \times 10^{12}$ РМР/мл) в объединенных стерилизованных фракциях, содержащих РМР, определяли с помощью NanoFCM с применением стандартов концентрации и размера, предоставленных производителем.

РМР из лимона замораживали при -20°C или -80°C в течение одной недели, размораживали при комнатной температуре и измеряли концентрацию с помощью NanoFCM (фиг. 5I). Данные показывают, что РМР из лимона являются стабильными после 1 цикла замораживания-размораживания после хранения в течение одной недели при -20°C или -80°C .

Пример 20. Получение РМР из среды для культивирования клеток растений

В этом примере продемонстрировано, что РМР можно получать из культуры клеток растений. В этом примере линию клеток *Zea mays Black Mexican Sweet* (BMS) применяли в качестве модельной линии клеток растений.

а) Получение РМР из линии клеток Zea mays BMS

Линию клеток *Zea mays Black Mexican sweet* (BMS) приобретали в ABRC и выращивали в базовой среде Мурасиге-Скуга pH 5,8, содержащей 4,3 г/л смеси основных солей Мурасиге-Скуга (Sigma M5524), 2% сахарозы (S0389, Millipore Sigma), 1x раствор витаминов MS (M3900, Millipore Sigma), 2 мг/л 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (D7299, Millipore Sigma) и 250 мкг/л тиамина HCL (V-014, Millipore Sigma), при 24°C с перемешиванием (110 об./мин.), и пересевали из расчета 20% объем/объем каждые 7 дней.

Через три дня после посева собирали 160 мл клеток BMS и центрифугировали при $500 \times g$ в течение 5 мин. с удалением клеток и $10000 \times g$ в течение 40 мин. с удалением крупных остатков. Среду пропускали через фильтр с размером пор 0,45 мкм с удалением крупных частиц, и фильтрованную среду концентрировали и промывали (100 мл буфера MES, 20 mM MES, 100 mM NaCl, pH 6) посредством TFF (размер пор 5 нм) до 4 мл (40x). Затем авторы настоящего изобретения применяли эксклюзионную хроматографию, чтобы элюировать фракции, содержащие РМР, которые анализировали с помощью NanoFCM для определения концентрации РМР, анализировали в отношении оптической плотности при 280 нм (SpectraMax®) и подвергали анализу концентрации белка (BCA-анализ Pierce™, ThermoFisher) для подтверждения фракций, содержащих РМР, и поздних фракций, содержащих контаминанты (фиг. 6A-6C). Фракции 4-6, полученные в ходе SEC, содержали очищенные РМР (фракции 9-13 содержали контаминанты) и их объединяли вместе. Конечную концентрацию РМР ($2,84 \times 10^{10}$ РМР/мл) и медианный размер РМР (63,2 нм +/- 12,3 нм SD) в объединенных фракциях, содержащих РМР, определяли с помощью NanoFCM с применением стандартов концентрации и размера, предоставленных производителем (фиг. 6D-6E).

Эти данные показывают, что РМР можно выделять, очищать и концентрировать из

жидких питательных сред для растений.

Пример 21. Захват РМР бактериями и грибами

В этом примере продемонстрирована способность РМР ассоциировать с бактериями и грибами и захватываться ими. В этом примере РМР из грейпфрута и лимона применяли в качестве модели РМР, *Escherichia coli*, *Pseudomonas syringae* и *Pseudomonas aeruginosa* применяли в качестве модельных патогенных бактерий, а дрожжевой грибок *Saccharomyces cerevisiae* применяли в качестве модельного патогенного гриба.

a) Мечение РМР из грейпфрута и лимона сложным эфиром NHS DyLight 800

РМР из грейпфрута и лимона получали, как описано в **примерах 19а** и **19б**. РМР метили ковалентным красителем для мембран, представляющим собой сложный эфир NHS DyLight 800 (Life Technologies, № 46421) (DyL800). Вкратце, DyL800 растворяли в DMSO до конечной концентрации 10 мг/мл, и 200 мкл РМР смешивали с 5 мкл красителя и инкубировали в течение 1 ч. при комнатной температуре на шейкере. Меченые РМР промывали 2-3 раза с помощью ультрацентрифуги при 100000x g в течение 1 ч. при 4°C, и осадки ресуспендировали с помощью 1,5 мл ультрачистой воды. Для контроля наличия потенциальных агрегатов красителя готовили контрольный образец, содержащий только краситель, в соответствии с той же процедурой, добавив 200 мкл ультрачистой воды вместо РМР. Конечный осадок РМР, меченных DyL800, и контроль, содержащий только краситель DyL800, ресуспендировали в минимальном количестве ультрачистой воды и характеризовали с помощью NanoFCM. Конечная концентрация РМР из грейпфрута, меченных DyL800, составляла $4,44 \times 10^{12}$ РМР/мл, со средним размером DyL800-РМР 72,6 нм +/- 14,6 нм (фиг. 7А), а конечная концентрация РМР из лимона, меченных DyL800, составляла $5,18 \times 10^{12}$ РМР/мл со средним размером DyL800-РМР 68,5 нм +/- 14 нм (фиг. 7В).

b) Захват РМР из грейпфрута и лимона, меченых DyL800, дрожжевым грибом

Saccharomyces cerevisiae (ATCC, № 9763) выращивали на бульоне дрожжевого экстракта пептон-декстрозы (YPD) и поддерживали при 30°C. Чтобы определить, могут ли РМР захватываться дрожжевыми грибами, 5 мл свежей культуры дрожжевых грибов выращивали в течение ночи при 30°C, клетки осаждали при 1500 x g в течение 5 мин. и ресуспендировали в 10 мл воды. Клетки дрожжевых грибов промывали один раз с помощью 10 мл воды, ресуспендировали в 10 мл воды и инкубировали в течение 2 ч. при 30°C при встряхивании для того, чтобы обеспечить недостаток питательных веществ у клеток. Затем 95 мкл клеток дрожжевых грибов смешивали с 5 мкл воды (отрицательный контроль), контролем, содержащий только краситель DyL800 (контроль агрегированного красителя), или DyL800-РМР до конечной концентрации 5×10^{10} DyL800-РМР/мл в пробирке объемом 1,5 мл. Образцы инкубировали в течение 2 ч. при 30°C при встряхивании. Затем обработанные клетки промывали с помощью 1 мл промывочного буфера (вода с добавлением 0,5% Triton X-100), инкубировали в течение 5 мин. и центрифугировали при 1500 x g в течение 5 мин. Супернатант удаляли и клетки дрожжевых грибов промывали еще 3 раза для удаления РМР, которые не захватились

клетками, и последний раз водой для удаления детергента. Клетки дрожжевых грибов ресуспендировали в 100 мкл воды, и переносили в 96-луночный планшет с прозрачным дном, и измеряли относительную интенсивность флуоресценции (A.U.) при длине волны возбуждения 800 нм на сканере Odyssey® CLx (Li-Cor).

Для оценки захвата DyL800-РМР дрожжевыми грибами образцы нормализовали по контролю, содержащему только краситель DyL800, и сравнивали относительные интенсивности флуоресценции DyL800-РМР из грейпфрута и лимона. Данные авторов настоящего изобретения показывают, что *Saccharomyces cerevisiae* захватывает РМР и различия в захвате между DyL800-РМР из лимона и грейпфрута не наблюдали (фиг. 7С).

с) Захват РМР из грейпфрута и лимона, меченых DyL800, бактериями

Штаммы бактерий и дрожжевых грибов поддерживали, как указано поставщиком: *E. coli* (Ec, ATCC, № 25922) выращивали на триптиказо-соевом агаре/бульоне при 37°C, *Pseudomonas aeruginosa* (Pa, ATCC) выращивали на триптическом соевом агаре/бульоне с 50 мг/мл рифампицина при 37°C, а бактерии DC3000 *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* str. (Ps, ATCC, № ВАА-871) выращивали на агаризованной среде Кинга В с 50 мг/мл рифампицина при 30°C.

Чтобы определить, могут ли РМР захватываться бактериями, 5 мл свежих культур бактерий выращивали в течение ночи, и клетки осаждали при 3000 x g в течение 5 мин., ресуспендировали в 5 мл 10 mM MgCl₂, промывали один раз с помощью 5 мл 10 mM MgCl₂ и ресуспендировали в 5 мл 10 mM MgCl₂. Клетки инкубировали в течение 2 ч. при 37°C (Ec) или 30°C (Pa, Ps) в инкубаторе со встряхиванием при ~200 об./мин. для того, чтобы обеспечить недостаток питательных веществ у клеток. Определяли OD600 и доводили плотность клеток до ~10×10⁹ КОЕ/мл. Затем 95 мкл бактериальных клеток смешивали с 5 мкл воды (отрицательный контроль), с контролем, содержащим только краситель DyL800 (контроль агрегированного красителя), или с DyL800-РМР до конечной концентрации 5×10¹⁰ DyL800-РМР/мл в пробирке объемом 1,5 мл. Образцы инкубировали в течение 2 ч. при 30°C при встряхивании. Затем обработанные клетки промывали с помощью 1 мл промывочного буфера (10 mM MgCl₂ с добавлением 0,5% Triton X-100), инкубировали в течение 5 мин. и центрифугировали при 3000 x g в течение 5 мин. Супернатант удаляли и клетки дрожжевых грибов промывали еще 3 раза для удаления РМР, которые не захватываются клетками, и один раз с помощью 1 мл 10 mM MgCl₂ для удаления детергента. Бактериальные клетки ресуспендировали в 100 мкл 10 mM MgCl₂, переносили в 96-луночный планшет с прозрачным дном и измеряли относительную интенсивность флуоресценции (A.U.) при длине волны возбуждения 800 нм на сканере Odyssey® CLx (Li-Cor).

Для оценки захвата DyL800-РМР бактериями образцы нормализовали по контролю, содержащему только краситель DyL800, и сравнивали относительные интенсивности флуоресценции DyL800-РМР из грейпфрута и лимона. Данные авторов настоящего изобретения показывают, что все протестированные виды бактерий захватывают РМР (фиг. 7С). В общем, предпочтительнее захватывались РМР из лимона

(более высокая интенсивность сигнала, чем в случае РМР из грейпфрута). *E. coli* и *P. aeruginosa* демонстрировали наиболее высокий уровень захвата DyL800-РМР.

Пример 22. Захват РМР клетками насекомых

В этом примере продемонстрирована способность РМР ассоциировать с клетками насекомых и захватываться ими. В этом примере клетки sf9 *Spodoptera frugiperda* (насекомое) и линии клеток S2 *Drosophila melanogaster* (насекомое) применяли в качестве модельных клеток насекомых, а РМР из лимона применяли в качестве модельных РМР.

а) Получение РМР из лимона

Лимоны приобретали в магазине сети Whole Foods Market®. Лимонный сок (3,3 л) собирали с применением соковыжималки, рН доводили до рН 4 с помощью NaOH и инкубировали с 0,5 Ед./мл пектиназы (Sigma, 17389) для удаления контаминантов, представляющих собой пектин. Сок инкубировали в течение одного часа при комнатной температуре при перемешивании и хранили в течение ночи при 4°C, а затем центрифугировали при 3000 g в течение 20 минут, а затем 10000 g в течение 40 минут для удаления крупных остатков. Затем обработанный сок инкубировали с 500 мМ EDTA, рН 8,6, до конечной концентрации 50 мМ EDTA, рН 7,5 в течение 30 минут при комнатной температуре для обеспечения хелатирования кальция и предупреждения образования макромолекул пектина. Впоследствии сок, обработанный EDTA, пропускали через фильтр с размером пор 11 мкм, 1 мкм и 0,45 мкм для удаления крупных частиц. Отфильтрованный сок промывали (300 мл PBS во время процедуры TFF) и концентрировали 2x до общего объема 1350 мл посредством фильтрации в тангенциальном потоке (TFF) и подвергали диализу в течение ночи с применением мембраны для диализа на 300 кДа. Затем сок, подвергнутый диализу, дополнительно промывали (500 мл PMS во время процедуры TFF) и концентрировали посредством TFF до конечной концентрации 160 мл (~20x). Затем авторы настоящего изобретения применяли эксклюзионную хроматографию, чтобы элюировать фракции, содержащие РМР, и анализировали оптическую плотность при 280 нм (SpectraMax®) для определения фракций, содержащих РМР, из фракций позднего элюирования, содержащих контаминанты. Фракции 4-7, полученные в ходе SEC, содержащие очищенные РМР, объединяли вместе, стерилизовали фильтрованием путем последовательной фильтрации с применением шприцевых фильтров с размером пор 0,85 мкм, 0,4 мкм и 0,22 мкм и дополнительно концентрировали путем осаждения РМР в течение 1,5 ч. при 40000x g, и, наконец, осадок ресуспендировали в ультрачистой воде. Конечную концентрацию РМР ($1,53 \times 10^{13}$ РМР/мл) и медианный размер РМР (72,4 нм +/- 19,8 нм SD) (фиг. 8А) определяли с помощью нанопоточной цитометрии (NanoFCM) с применением стандартов концентрации и размера, предоставленных производителем, и концентрацию белка РМР (12,317 мг/мл) определяли с применением ВСА-анализа Pierce™ (ThermoFisher) в соответствии с инструкциями производителя.

б) Мечение РМР из лимона сложным эфиром NHS и Alexa Fluor 488

РМР из лимона метили ковалентным красителем для мембран, представляющим

собой сложный эфир NHS и Alexa Fluor 488 (Life Technologies) (AF488). Вкратце, AF488 растворяли в DMSO до конечной концентрации 10 мг/мл, 200 мкл PMP ($1,53 \times 10^{13}$ PMP/мл) смешивали с 5 мкл красителя, инкубировали в течение 1 ч. при комнатной температуре на шейкере, и меченые PMP промывали 2-3 раза с помощью ультрацентрифуги при $100000 \times g$ в течение 1 ч. при 4°C и осадки ресуспендировали в 1,5 мл ультрачистой воды. Для контроля наличия потенциальных агрегатов красителя готовили контрольный образец, содержащий только краситель, в соответствии с той же процедурой, добавив 200 мкл ультрачистой воды вместо PMP. Конечный осадок PMP, меченных AF488, и контроль, содержащий только краситель AF488, ресуспендировали в минимальном количестве ультрачистой воды и характеризовали с помощью NanoFCM. Конечная концентрация PMP, меченных AF488, составляла $1,33 \times 10^{13}$ PMP/мл со средним размером AF488-PMP 72,1 нм +/- 15,9 нм SD, а эффективность мечения достигала 99% (фиг. 8B).

с) Обработка клеток насекомых с помощью AF488-PMP из лимона

PMP из лимона получали и метили, как описано в **примерах 22a** и **22b**. Линию клеток sf9 *Spodoptera frugiperda* получали из ThermoFisher Scientific (№ B82501) и поддерживали в среде для насекомых TNM-FH (Sigma Aldrich, T1032) с добавлением 10% инактивированной нагреванием фетальной бычьей сыворотки. Линию клеток S2 *Drosophila melanogaster* получали из ATCC (№ CRL-1963) и поддерживали в среде Шнайдера для дрозофил (Gibco/ThermoFisher Scientific № 21720024) с добавлением 10% инактивированной нагреванием фетальной бычьей сыворотки. Обе линии клеток выращивали при 26°C . Для обработки с помощью PMP клетки S2/Sf9 высевали при 50% конфлюэнтности на стерильные покрытые 0,01% поли-L-лизинном стеклянные покровные стекла в 24-луночной планшете в 2 мл полной среды и оставляли для прикрепления к покровному стеклу на ночь. Затем клетки обрабатывали путем добавления только 10 мкл красителя AF488 (контроль агрегированного красителя), PMP из лимона (контроль, содержащий только PMP) или AF488-PMP для дублирования образцов, которые инкубировали в течение 2 часов при 26°C . Конечная концентрация составляла $1,33 \times 10^{11}$ PMP/AF488-PMP на лунку. Затем клетки дважды промывали с помощью 1 мл PBS и фиксировали в течение 15 мин. 4% формальдегидом в PBS. Затем клетки пермеабелизовали с помощью PBS+0,02% Triton X-100 в течение 15 мин., и ядра окрашивали раствором DAPI 1:1000 в течение 30 мин. Клетки один раз промывали с помощью PBS и покровные стекла помещали на предметные стекла сTM ProLong Gold Antifade (ThermoFisher Scientific) для уменьшения фотообесцвечивания. Смолу оставляли на ночь, клетки исследовали на эпифлуоресцентном микроскопе Olympus с применением 100x объектива и получали изображения срезов по оси Z размером 10 мкм с шагом 0,25 мкм. Аналогичные результаты были получены как для клеток S2 *D. melanogaster*, так и для клеток S9 *L. frugiperda*. В то время как в контроле, содержащем только краситель AF488, и в контроле, содержащем только PMP, очагов с зеленой окраской не наблюдали, почти все клетки насекомых, обработанные с помощью AF488-PMP, демонстрировали

очаги с зеленой окраской внутри клеток насекомых. В цитоплазме имел место сильный сигнал с несколькими яркими более крупными очагами, указывающими на наличие эндосомных компартментов. Вследствие просачивания DAPI в канале 488 было невозможно оценить наличие сигнала AF488-RMP в ядре. В случае клеток sf9 94,4% (n=38) исследованных клеток содержали очаги с зеленой окраской, в то время как этого не наблюдали в контрольных образцах, содержащих только краситель AF488 (n=68) или только RMP (n=42).

Данные авторов настоящего изобретения свидетельствуют о том, что RMP могут ассоциировать с мембранами клеток насекомых и могут эффективно захватываться клетками насекомых.

Пример 23. Загрузка RMP низкомолекулярным соединением

В этом примере продемонстрировано загрузку RMP модельным низкомолекулярным соединением с целью доставки средства с применением различных источников RMP и способов инкапсуляции. В этом примере доксорубицин применяли в качестве модельного низкомолекулярного соединения, а RMP из лимона и грейпфрута применяли в качестве модельных RMP.

Авторы настоящего изобретения показали, что RMP можно эффективно загружать доксорубицином, и что загруженные RMP являются стабильными в течение по меньшей мере 8 недель при 4°C.

а) Получение RMP из грейпфрута с применением TFF в комбинации с SEC

Белые грейпфруты (Флорида) приобретали в магазине сети Whole Foods Market®. Один литр грейпфрутового сока собирали с помощью соковыжималки и затем центрифугировали при 3000× g в течение 20 минут, а затем при 10000× g в течение 40 минут для удаления крупных остатков. Затем добавляли 500 mM EDTA, pH 8,6, до конечной концентрации 50 mM EDTA, pH 7, и инкубировали в течение 30 минут для обеспечения хелатирования кальция и предупреждения образования макромолекул пектина. Впоследствии сок пропускали через фильтр для кофе и фильтры с размером пор 1 мкм и 0,45 мкм для удаления крупных частиц. Отфильтрованный сок концентрировали посредством фильтрации в тангенциальном потоке (TFF, размер пор 5 нм) до 400 мл и подвергали диализу в течение ночи в PBS, pH 7,4, с применением мембраны для диализа на 300 кДа для удаления контаминантов. Затем сок, подвергнутый диализу, дополнительно концентрировали посредством TFF до конечной концентрации 50 мл (20x). Затем авторы настоящего изобретения применяли эксклюзионную хроматографию, чтобы элюировать фракции, содержащие RMP, которые анализировали в отношении оптической плотности при 280 нм (SpectraMax®) для подтверждения фракций, содержащих RMP, и поздних фракций, содержащих контаминанты (фиг. 9А). Фракции 4-6, полученные в ходе SEC, содержащие очищенные RMP, объединяли вместе, и дополнительно концентрировали путем осаждения RMP в течение 1,5 ч. при 40000x g, и осадок ресуспендировали в ультраточистой воде. Конечную концентрацию RMP ($6,34 \times 10^{12}$ RMP/мл) и медианный размер RMP (63,7 нм +/- 11,5 нм SD) определяли с помощью

NanoFCM с применением стандартов концентрации и размера, предоставленных производителем (фиг. 9B и 9C).

b) Получение РМР из лимона с применением TFF в комбинации с SEC

Лимоны приобретали в магазине сети Whole Foods Market®. Один литр лимонного сока собирали с помощью соковыжималки и затем центрифугировали при $3000 \times g$ в течение 20 минут, а затем при $10000 \times g$ в течение 40 минут для удаления крупных остатков. Затем добавляли 500 мМ EDTA, pH 8,6, до конечной концентрации 50 мМ EDTA, pH 7, и инкубировали в течение 30 минут для обеспечения хелатирования кальция и предупреждения образования макромолекул пектина. Впоследствии сок пропускали через фильтр для кофе, фильтры с размером пор 1 мкм и 0,45 мкм фильтры для удаления крупных частиц. Отфильтрованный сок концентрировали посредством фильтрации в тангенциальном потоке (TFF, размер пор 5 нм) до 400 мл и подвергали диализу в течение ночи в PBS, pH 7,4, с применением мембраны для диализа на 300 кДа для удаления контаминантов. Затем сок, подвергнутый диализу, дополнительно концентрировали посредством TFF до конечной концентрации, содержащейся в 50 мл (20x). Затем авторы настоящего изобретения применяли эксклюзионную хроматографию, чтобы элюировать фракции, содержащие РМР, которые анализировали в отношении оптической плотности при 280 нм (SpectraMax®) для подтверждения фракций, содержащих РМР, и поздних фракций, содержащих контаминанты (фиг. 9D). Фракции 4-6, полученные в ходе SEC, содержащие очищенные РМР, объединяли вместе, и дополнительно концентрировали путем осаждения РМР в течение 1,5 ч. при $40000 \times g$, и осадок ресуспендировали в ультрачистой воде. Конечную концентрацию РМР ($7,42 \times 10^{12}$ РМР/мл) и медианный размер РМР (68 нм +/- 17,5 нм SD) определяли с помощью NanoFCM с применением стандартов концентрации и размера, предоставленных производителем (фиг. 9E и 9F).

c) Пассивная загрузка доксорубицина в РМР из лимона и грейпфрута

РМР из грейпфрута (**пример 23a**) и лимона (**пример 23b**) использовали для загрузки доксорубицина (DOX). Исходный раствор доксорубицина (DOX, Sigma PNR1789) готовили в концентрации 10 мг/мл в ультрачистой воде (вода UltraPure™, не содержащая DNase/RNase, ThermoFisher, 10977023), стерилизовали фильтрованием (0,22 мкм) и хранили при 4°C. 0,5 мл РМР смешивали с 0,25 мл раствора DOX. Конечная концентрация DOX в смеси составляла 3,3 мг/мл. Исходная концентрация частиц для РМР из грейпфрута (GF) составляла $9,8 \times 10^{12}$ РМР/мл, а для РМР из лимона (LM) составляла $1,8 \times 10^{13}$ РМР/мл. Смесь перемешивали в течение 4 часов при 25°C, 100 об./мин. в темноте. Затем смесь разбавляли в 3,3 раза ультрачистой водой (конечная концентрация DOX в смеси составляла 1 мг/мл) и разделяли на две равные части (1,25 мл для пассивной загрузки и 1,25 мл для активной загрузки (**пример 23d**). Оба образца инкубировали в течение дополнительных 23 ч. при 25°C, 100 об./мин. в темноте. Все стадии проводили в стерильных условиях.

В случае пассивной загрузки DOX, чтобы удалить не загрузившийся или слабо связанный DOX, образец очищали путем ультрацентрифугирования. Смесь разделяли на 6

равных частей (по 200 мкл каждая) и добавляли стерильную воду (1,3 мл). Образцы центрифугировали (40000x g, 1,5 ч., 4°C) в ультрацентрифужных пробирках объемом 1,5 мл. Осадки PMP-DOX ресуспендировали в стерильной воде и дважды центрифугировали. Образцы хранили при 4°C в течение трех дней.

Перед использованием PMP, нагруженные DOX, еще раз промывали путем ультрацентрифугирования (40000x g, 1,5 ч., 4°C). Конечный осадок ресуспендировали в стерильной ультрачистой воде и хранили при 4°C до дальнейшего использования. Концентрацию DOX в PMP определяли с помощью спектрофотометра SpectraMax (Ex/Em=485/550 нм), а концентрацию общего числа частиц определяли с помощью нанопроточной цитометрии (NanoFCM).

d) Активная загрузка доксорубицина в PMP из лимона и грейпфрута

PMP из грейпфрута (**пример 23a**) и лимона (**пример 23b**) использовали для загрузки доксорубицина (DOX). Исходный раствор доксорубицина (DOX, Sigma PNR1789) готовили в концентрации 10 мг/мл в ультрачистой воде (ThermoFisher, 10977023), стерилизовали (0,22 мкм) и хранили при 4°C. 0,5 мл PMP смешивали с 0,25 мл раствора DOX. Конечная концентрация DOX в смеси составляла 3,3 мг/мл. Исходная концентрация частиц для PMP из грейпфрута (GF) составляла $9,8 \times 10^{12}$ PMP/мл, а для PMP из лимона (LM) составляла $1,8 \times 10^{13}$ PMP/мл. Смесь перемешивали в течение 4 часов при 25°C, 100 об./мин. в темноте. Затем смесь разбавляли в 3,3 раза ультрачистой водой (конечная концентрация DOX в смеси составляла 1 мг/мл) и разделяли на две равные части (1,25 мл для пассивной загрузки (**пример 23c**) и 1,25 мл для активной загрузки). Оба образца инкубировали в течение дополнительных 23 ч. при 25°C, 100 об./мин. в темноте. Все стадии проводили в стерильных условиях.

После инкубации при 25°C в течение дня смесь выдерживали при 4°C в течение 4 дней. Затем смесь обрабатывали ультразвуком в течение 30 мин. в бане для обработки ультразвуком (Branson 2800) при 42°C, встряхивали на вортексе и обрабатывали ультразвуком еще раз в течение 20 мин. Затем смесь разбавляли в два раза стерильной водой и экструдировали с применением мини-экструдера Avanti (Avanti Lipids). Чтобы уменьшить количество липидных бислоев и общий размер частиц, PMP, нагруженные DOX, экструдировали посредством способа со ступенчатым уменьшением размера отверстий: 800 нм, 400 нм и 200 нм для PMP из грейпфрута (GF); и 800 нм, 400 нм для PMP из лимона (LM). Для удаления не загрузившегося или слабо связанного DOX образцы промывали с помощью подхода на основе ультрацентрифугирования. В частности, образец (1,5 мл) разбавляли стерильной ультрачистой водой (всего 6,5 мл) и дважды центрифугировали при 40000x g в течение 1 ч. при 4°C в ультрацентрифужных пробирках объемом 7 мл. Конечный осадок ресуспендировали в стерильной ультрачистой воде и хранили при 4°C до дальнейшего использования.

e) Определение загрузочной способности PMP, нагруженных DOX, полученных с помощью пассивной и активной загрузки

Чтобы оценить способность к загрузке DOX в PMP, концентрацию DOX

оценивали путем измерения интенсивности флуоресценции ($E_x/E_m=485/550$ нм) с применением спектрофотометра SpectraMax®. Использовали калибровочную кривую, построенную по концентрации свободного DOX от 0 до 83,3 мкг/мл. Для диссоциации PMP, загруженных DOX, и комплексов DOX (π - π стекирование) образцы и стандарты инкубировали с 1% SDS при 37°C за 30 мин. до измерений флуоресценции. Загрузочную способность (пг DOX на 1000 частиц) рассчитывали в виде концентрации DOX (пг/мл), деленной на общую концентрацию PMP (PMP/мл) (фиг. 9G). Загрузочная способность в случае пассивно загруженных PMP составляла 0,55 пг DOX (GF PMP-DOX) и 0,25 пг DOX (LM PMP-DOX) для 1000 PMP. Загрузочная способность в случае активно загруженных PMP составляла 0,23 пг DOX (GF PMP-DOX) и 0,27 пг DOX (LM PMP-DOX) для 1000 PMP.

f) Стабильность PMP из грейпфрута и лимона, загруженных доксорубицином

Стабильность PMP, загруженных DOX, оценивали путем измерения концентрации общих PMP (PMP/мл) в образце с течением времени с применением NanoFCM. Исследование стабильности проводили при 4°C в течение восьми недель в темноте. Аликвоты PMP-DOX хранили при 4°C и анализировали с помощью NanoFCM в предварительно определенные дни. Размер частиц PMP-DOX существенно не изменялся. Таким образом, в случае PMP, пассивно загруженных с помощью GF, диапазон средних размеров частиц составлял 70-80 нм в течение двух месяцев. Анализировали концентрации общих PMP в образце (фиг. 9H). Диапазон концентраций для PMP, пассивно загруженных с помощью GF, составлял от $2,06 \times 10^{11}$ до $3,06 \times 10^{11}$ PMP/мл, для PMP, активно загруженных с помощью GF, он составлял от $5,55 \times 10^{11}$ до $9,97 \times 10^{11}$ PMP/мл, и для PMP, пассивно загруженных с помощью LM, он составлял от $8,52 \times 10^{11}$ до $1,76 \times 10^{12}$ PMP/мл в течение восьми недель при 4°C. Данные авторов настоящего изобретения указывали на то, что PMP, загруженные DOX, являются стабильными в течение 8 недель при 4 °C.

Пример 24. Обработка бактерий и грибов с помощью PMP, загруженных низкомолекулярным соединением

В этом примере продемонстрирована способность PMP к загрузке низкомолекулярным соединением с целью обеспечения снижения приспособленности патогенных бактерий и грибов. В этом примере PMP из грейпфрута применяли в качестве модельного PMP, *E. coli*, *P. syringae* и *P. aeruginosa* применяли в качестве модельных патогенных бактерий, дрожжевой грибок *S. cerevisiae* применяли в качестве модельного патогенного гриба, а доксорубицин применяли в качестве модельного низкомолекулярного соединения. Доксорубицин представляет собой цитотоксический антрациклиновый антибиотик, выделенный из культур *Streptomyces peucetius* var. *caesius*. Доксорубицин взаимодействует с ДНК путем интеркаляции и ингибирует как репликацию ДНК, так и транскрипцию РНК. Было показано, что доксорубицин обладает антибиотической активностью (Westman et al., Chem Biol, 19(10): 1255-1264, 2012.)

a) Получение PMP из грейпфрута с применением TFF в комбинации с SEC

Красные органические грейпфруты приобретали в магазине сети Whole Foods Market®. Общий вид схемы получения РМР представлен на фиг. 10А. Четыре литра грейпфрутового сока собирали с помощью соковыжималки, рН доводили до рН 4 с помощью NaOH, инкубировали с 1 Ед./мл пектиназы (Sigma, 17389) для удаления контаминантов, представляющих собой пектин, и затем центрифугировали при 3000 g в течение 20 минут, после чего при 10000 g в течение 40 минут для удаления крупных остатков. Затем обработанный сок инкубировали с 500 мМ EDTA, рН 8,6, до конечной концентрации 50 мМ EDTA, рН 7,7 в течение 30 минут для обеспечения хелатирования кальция и предупреждения образования макромолекул пектина. Впоследствии сок, обработанный EDTA, пропускали через фильтр с размером пор 11 мкм, 1 мкм и 0,45 мкм для удаления крупных частиц. Отфильтрованный сок промывали и концентрировали посредством фильтрации в тангенциальном потоке (TFF), используя TFF 300 кДа. Сок концентрировали 5х, после чего выполняли промывку с обменом с помощью 6 объемов PBS и далее фильтровали до конечной концентрации 198 мл (20х). Затем авторы настоящего изобретения применяли эксклюзионную хроматографию, чтобы элюировать фракции, содержащие РМР, которые анализировали в отношении оптической плотности при 280 нм (SpectraMax®) и концентрации белка (BCA-анализ Pierce™ ThermoFisher) для подтверждения фракций, содержащих РМР, и поздних фракций, содержащих контаминанты (фиг. 10В и 10С). Фракции 3-7, полученные в ходе SEC, содержали очищенные РМР (фракции 9-12 содержали контаминанты), объединяли вместе, стерилизовали фильтрованием путем последовательной фильтрации с применением шприцевых фильтров с размером пор 0,8 мкм, 0,45 мкм и 0,22 мкм и дополнительно концентрировали путем осаждения РМР в течение 1,5 ч. при 40000х g и ресуспендирования осадка в 4 мл дистиллированной воды UltraPure™, не содержащей DNase/RNase (ThermoFisher, 10977023). Конечную концентрацию РМР ($7,56 \times 10^{12}$ РМР/мл) и средний размер РМР (70,3 нм +/- 12,4 нм SD) определяли с помощью NanoFCM с применением стандартов концентрации и размера, предоставленных производителем (фиг. 10D и 10E). Полученные РМР из грейпфрута использовали для загрузки доксорубина.

б) Загрузка доксорубина в РМР из грейпфрута

РМР из грейпфрута, полученные в **примере 24а**, использовали для загрузки доксорубина (DOX). Исходный раствор доксорубина (Sigma PHR1789) готовили в концентрации 10 мг/мл в ультрачистой воде и стерилизовали фильтрованием (0,22 мкм). Стерильные РМР из грейпфрута (3 мл при концентрации частиц $7,56 \times 10^{12}$ РМР/мл) смешивали с 1,29 мл раствора DOX. Конечная концентрация DOX в смеси составляла 3 мг/мл. Смесь обрабатывали ультразвуком в течение 20 мин. в бане для обработки ультразвуком (Branson 2800) с повышением температуры до 40°C и выдерживали в бане в течение дополнительных 15 минут без обработки ультразвуком. Смесь перемешивали в течение 4 часов при 24°C, 100 об./мин. в темноте. Затем смесь экстрадировали с применением мини-экструдера Avanti (Avanti Lipids). Чтобы уменьшить количество

липидных бислоев и общий размер частиц, РМР, загруженные DOX, экструдировали посредством способа со ступенчатым уменьшением размера отверстий: 800 нм, 400 нм и 200 нм. Подвергнутый экструдированию образец стерилизовали фильтрованием путем последовательного пропускания через фильтр с размером пор 0,8 мкм и 0,45 мкм (Millipore, диаметр 13 мм) в вытяжном шкафу для ТС. Для удаления не загрузившегося или слабо связанного DOX образец очищали с помощью подхода на основе ультрацентрифугирования. В частности, образец центрифугировали при 100000x g в течение 1 ч. при 4°C в ультрацентрифужных пробирках объемом 1,5 мл. Супернатант собирали для дополнительного анализа и хранили при 4°C. Осадок ресуспендировали в стерильной воде и ультрацентрифугировали в тех же условиях. Эту стадию повторяли четыре раза. Конечный осадок ресуспендировали в стерильной ультрачистой воде и хранили при 4°C до дальнейшего использования.

Далее определяли концентрацию частиц и загрузочную способность РМР. Общее количество РМР в образце ($4,76 \times 10^{12}$ РМР/мл) и средний размер частиц (72,8 нм +/- 21 нм SD) определяли с применением NanoFCM. Концентрацию DOX оценивали путем измерения интенсивности флуоресценции (Ex/Em=485/550 нм) с применением спектрофотометра SpectraMax®. Получали калибровочную кривую, построенную по концентрации свободного DOX от 0 до 50 мкг/мл в стерильной воде. Для диссоциации РМР, загруженных DOX, и комплексов DOX (π - π стекирование) образцы и стандарты инкубировали с 1% SDS при 37°C в течение 45 мин. перед измерениями флуоресценции. Загрузочную способность (пг DOX на 1000 частиц) рассчитывали в виде концентрации DOX (пг/мл), деленной на общее количество РМР (РМР/мл). Загрузочная способность РМР-DOX составляла 1,2 пг DOX на 1000 РМР. Однако следует отметить, что эффективность загрузки (% РМР, загруженных DOX, по сравнению с общим количеством РМР) не могли оценить, поскольку спектр флуоресценции DOX не мог быть обнаружен на NanoFCM.

Результаты авторов настоящего изобретения показали, что РМР можно эффективно загружать низкомолекулярным соединением.

с) Обработка бактерий и дрожжевых грибов с помощью РМР из грейпфрута, загруженных Dox

Чтобы установить, что РМР могут доставлять цитотоксическое средство, несколько видов микроорганизмов обрабатывали с помощью РМР из грейпфрута, загруженными доксорубицином (РМР-DOX), из **примера 24b**.

Штаммы бактерий и дрожжевых грибов поддерживали, как указано поставщиком: E. coli (ATCC, № 25922) выращивали на триптиказо-соевом агаре/бульоне при 37°C, Pseudomonas aeruginosa (ATCC) выращивали на триптическом соевом агаре/бульоне с 50 мг/мл рифампицина при 37°C, бактерии DC3000 Pseudomonas syringae pv. tomato str. (ATCC, № ВАА-871) выращивали на агаризованной среде Кинга В с 50 мг/мл рифампицина при 30°C, а Saccharomyces cerevisiae (ATCC, № 9763) выращивали на бульоне дрожжевого экстракта пептон-декстрозы (YPD) и поддерживали при 30°C. Перед

обработкой свежие однодневные культуры выращивали в течение ночи, OD (600 нм) доводили до 0,1 OD средой перед использованием, и бактерии/дрожжевые грибы переносили в 96-луночный планшет для обработки (образцы в двух повторностях, 100 мкл/лунка). Бактерии/дрожжевые грибы обрабатывали 50 мкл раствора PMP-DOX в ультрачистой воде до эффективной концентрации DOX, составляющей 0 (отрицательный контроль), 5 мкМ, 10 мкМ, 25 мкМ, 50 мкМ и 100 мкМ (конечный объем на лунку составил 150 мкл). Планшеты закрывали алюминиевой фольгой, инкубировали при 37°C (*E. coli*, *P. aeruginosa*), или 30°C (*S. cerevisiae*, *P. syringae*) и перемешивали при 220 об./мин.

Измерение кинетики поглощения при 600 нм выполняли на спектрофотометре SpectraMax® для контроля OD культур при t=0 ч., t=1 ч., t=2 ч., t=3 ч., t=4,5 ч., t=16 ч. (*E. coli*, *P. aeruginosa*) или t=0,5 ч., t=1,5 ч., t=2,5 ч., t=3,5 ч., t=4 ч., t=16 ч. (*P. syringae*, *S. cerevisiae*). Поскольку доксорубицин имеет широкий спектр флуоресценции, который частично переходит в поглощение при 600 нм при высокой концентрации DOX, все значения OD для терапевтической дозы сначала нормализовали до OD первого момента времени для этой дозы (t=0 для *E. coli*, *P. aeruginosa*, t=0,5 для *P. syringae*, *S. cerevisiae*).

Для сравнения цитотоксического действия обработки с помощью PMP-DOX на различные штаммы бактерий и дрожжевых грибов, в каждой группе обработки определяли относительную OD по сравнению с необработанным контролем (принятым за 100%). Все исследуемые виды микроорганизмов продемонстрировали различную степень цитотоксичности, индуцированной PMP-DOX (фиг. 10F-10I), которая являлась дозозависимой, за исключением *S. cerevisiae*. *S. cerevisiae* был наиболее чувствительным к PMP-DOX, проявляя цитотоксический ответ уже через 2,5 часа обработки и достигая IC50 при наиболее низкой протестированной эффективной дозе (5 мкМ) через 16 часов после обработки, являясь в 10 раз более чувствительным, чем любой другой исследуемый микроорганизм в этой серии. *P. syringae* достигал IC50 при 50 мкМ и 100 мкМ через 16 часов после инкубации. Через 3 часа после обработки *E. coli* достигал IC50 только в случае 100 мкМ. *P. aeruginosa* был наименее чувствительным к PMP-DOX, демонстрируя максимальное снижение роста, составлявшее 37%, при эффективных дозах DOX, составлявших 50 и 100 мкМ. Также авторы настоящего изобретения исследовали свободный доксорубицин и обнаружили, что при тех же дозах цитотоксичность индуцировалась раньше, чем при доставке в виде PMP-DOX. Это указывало на то, что низкомолекулярное соединение, представляющее собой доксорубицин, легко диффундировало в одноклеточные организмы, по сравнению с PMP с липидной мембраной, которые для высвобождения своего груза должны были пересечь клеточную стенку микроорганизма и слиться с мембранами целевых клеток, либо непосредственно с цитоплазматической мембраной, либо с эндосомной мембраной после эндоцитозного поглощения.

Данные авторов настоящего изобретения показали, что PMP, загруженные низкомолекулярным соединением, могли отрицательно влиять на приспособленность различных бактерий и дрожжевых грибов.

Пример 25. Обработка микроорганизма с помощью РМР, загруженных белком

В этом примере продемонстрировано, что РМР можно экзогенно загружать белком, РМР могут защищать свой груз от разрушения, и РМР могут доставлять свой функциональный груз в организм. В этом примере РМР из грейпфрута применяли в качестве модельного РМР, бактерию *Pseudomonas aeruginosa* применяли в качестве модельного организма, и белок люциферазу применяли в качестве модельного белка.

В то время как препараты на основе белков и пептидов обладают огромными возможностями влияния на приспособленность широкого спектра патогенных бактерий и грибов, которые являются устойчивыми или трудно поддаются лечению, их применение было неудачным из-за их нестабильности и проблем, касающихся составления.

а) Загрузка белка люциферазы в РМР из грейпфрута

РМР из грейпфрута получали, как описано в **примере 24а**. Белок люциферазу (Luc) приобретали в LSBio (№ по каталогу LS-G5533-150) и растворяли в PBS, pH 7,4 до конечной концентрации 300 мкг/мл. Стерилизованные фильтрованием РМР загружали белком люциферазой путем электропорации с применением протокола, основанного на Rachael W. Sirianni и Bahareh Behkam (eds.), Targeted Drug Delivery: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, vol. 1831. Отдельно РМР (контроль РМР), отдельно белок люциферазу (контроль белка) или РМР+белок люциферазу (РМР, загруженные белком) смешивали с 4,8х буфером для электропорации (100% Optiprep (Sigma, D1556) в ультрачистой воде) с получением конечной концентрации Optiprep, составляющей 21%, в реакционной смеси (см. таблицу 9). Контроль белка получали путем смешивания белка люциферазы с ультрачистой водой вместо Optiprep (контроль белка), поскольку конечный осадок РМР-Luc разбавляли водой. Образцы переносили в охлажденные кюветы и подвергали электропорации при 0,400 кВ, 125 мкФ (0,125 мФ), при сопротивлении от низкого 100 Ω до высокого 600 Ω с двумя импульсами (4-10 мс) с применением Biorad GenePulser®. Реакционную смесь помещали на лед на 10 минут и переносили в предварительно охлажденную льдом ультрацентрифужную пробирку объемом 1,5 мл. Все образцы, содержащие РМР, промывали 3 раза, добавляя 1,4 мл ультрачистой воды, после чего подвергали ультрацентрифугированию (100000 x g в течение 1,5 ч. при 4°C). Конечный осадок ресуспендировали в минимальном объеме ультрачистой воды (50 мкл) и хранили при 4°C до использования. После электропорации образцы, содержащие только белок люциферазу, не промывали путем центрифугирования и хранили при 4°C до использования.

Для определения загрузочной способности РМР использовали один микролитр РМР, загруженных люциферазой (РМР-Luc), и один микролитр незагруженных РМР. Для определения количества белка люциферазы, загруженного в РМР, строили стандартную кривую для белка люциферазы (LSBio, LS-G5533-150) (10, 30, 100, 300 и 1000 нг). Активность люциферазы во всех образцах и стандартах анализировали с применением набора для анализа люциферазы ONE-Glo™ (Promega, E6110) и измеряли люминесценцию с помощью спектрофотометра SpectraMax®. Количество белка

люциферазы, загруженного в РМР, определяли с применением стандартной кривой для белка люциферазы (LSBio, LS-G5533-150) и нормализовали по люминесценции в образце незагруженных РМР. Загрузочная способность (нг белка люциферазы на $1E+9$ частиц) рассчитывали в виде концентрации белка люциферазы (нг), деленной на количество загруженных РМР (РМР-Luc). Загрузочная способность РМР-Luc составляла 2,76 нг белка люциферазы/ 1×10^9 РМР.

Результаты авторов настоящего изобретения показали, что РМР можно загружать модельным белком, который остается активным после инкапсуляции.

Таблица 9. Стратегия загрузки белка люциферазы с применением электропорации

	РМР с люциферазой (РМР, загруженные белком)	Люцифераза (контроль белка)	РМР (контроль РМР)
Белок люциферазы (300 мкг/мл (мкл))	25	25	0
Optiprep 100% (мкл)	14,7	0	14,7
Ультрарастительная вода (мкл)	10,3	45	35,3
РМР GF (исходный раствор РМР=$7,56 \times 10^{12}$ РМР/мл)	20	0	20
Конечный объем	70	70	70

Примечание: 25 мкл люциферазы эквивалентно 7,5 мкг белка люциферазы.

b) Обработка Pseudomonas aeruginosa с помощью РМР из грейпфрута, загруженных белком люциферазой

Pseudomonas aeruginosa (АТСС) выращивали в течение ночи при 30° в триптическом соевом бульоне с добавлением 50 мкг/мл рифампицина в соответствии с инструкциями поставщика. Клетки *Pseudomonas aeruginosa* (общий объем 5 мл) собирали путем центрифугирования при 3000 x g в течение 5 мин. Клетки дважды промывали с помощью 10 мл 10 мМ MgCl₂ и ресуспендировали в 5 мл 10 мМ MgCl₂. OD600 измеряли и доводили до 0,5.

Обработки проводили в двух повторностях в пробирках Eppendorf объемом 1,5 мл, содержащих 50 мкл ресуспендированных клеток *Pseudomonas aeruginosa* с добавлением 3 нг РМР-Luc (разведенных в ультрарастительной воде), 3 нг свободного белка люциферазы (контроль, содержащий только белок; разбавленный в ультрарастительной воде) или ультрарастительной воды (отрицательный контроль). Во все образцы добавляли ультрарастительную воду до 75 мкл. Образцы смешивали и инкубировали при комнатной температуре в течение 2 ч. и накрывали алюминиевой фольгой. Затем образцы центрифугировали при

6000 x g в течение 5 мин. и 70 мкл супернатанта собирали и сохраняли для обнаружения люциферазы. Затем бактериальный осадок трижды промывали с помощью 500 мкл 10 mM MgCl₂, содержащего 0,5% Triton X-100, для удаления/разрушения РМР, которые не были захвачены. Последнюю промывку с помощью 1 мл 10 mM MgCl₂ проводили для удаления остаточного Triton X-100. Удаляли 970 мкл супернатанта (оставив осадок в 30 мкл промывочного буфера) и добавляли 20 мкл 10 mM MgCl₂ и 25 мкл ультрачистой воды для ресуспендирования осадков *Pseudomonas aeruginosa*. Содержание белка люциферазы измеряли по люминесценции с применением набора для анализа люциферазы ONE-Glo™ (Promega, E6110) в соответствии с инструкциями производителя. Образцы (образцы бактериального осадка и супернатанта) инкубировали в течение 10 минут и измеряли люминесценцию на спектрофотометре SpectraMax®.

Pseudomonas aeruginosa, обработанные РМР из грейпфрута, загруженными белком люциферазой, характеризовались экспрессией люциферазы, в 19,3 раза более высокой чем при обработке отдельно свободным белком люциферазой или контролем, представляющим собой ультрачистую воду, (отрицательный контроль), что указывало на то, что РМР способны эффективно доставлять свой белковый груз в бактерии (фиг. 11). Кроме того, РМР, по-видимому, защищали белок люциферазу от разрушения, поскольку уровни свободного белка люциферазы как в супернатанте, так и в бактериальных осадках были очень низкими. Учитывая, что терапевтическая доза составляла 3 нг белка люциферазы, на основе стандартной кривой для белка люциферазы, свободный белок люциферазу в супернатанте или бактериальных осадках после 2 часов инкубации при к. т. в воде составлял <0,1 нг белка люциферазы, что указывало на разрушение белка.

Данные авторов настоящего изобретения показали, что РМР могут доставлять белковый груз в организмы и что РМР могут защищать свой груз от разрушения в окружающей среде.

Пример 26. Поглощение РМР растительными клетками

В этом примере продемонстрирована способность РМР ассоциировать с растительными клетками и поглощаться ими. В этом примере РМР из лимона применяли в качестве модельного РМР, а линии клеток сои, пшеницы и кукурузы применяли в качестве модельных клеток растений.

а) Мечение РМР из лимона сложным эфиром NHS и Alexa Fluor 488

РМР из лимона получали, как описано в **примере 19b**. РМР метили ковалентным красителем для мембран, представляющим собой сложный эфир NHS и Alexa Fluor 488® (Life Technologies) (AF488). Вкратце, AF488 растворяли в DMSO до конечной концентрации 10 мг/мл, 200 мкл РМР (1,53E+13 РМР/мл) смешивали с 5 мкл красителя, инкубировали в течение 1 ч. при комнатной температуре на шейкере, меченые РМР промывали 2-3 раза с помощью ультрацентрифуги при 100000 x g в течение 1 ч. при 4°C. Осадки ресуспендировали с помощью 1,5 мл ультрачистой воды. Для контроля наличия потенциальных агрегатов красителя готовили контрольный образец, содержащий только краситель, в соответствии с той же процедурой, добавив 200 мкл ультрачистой воды

вместо PMP. Конечный осадок PMP, меченных AF488, и контроль, содержащий только краситель AF488, ресуспендировали в минимальном количестве ультрачистой воды и характеризовали с помощью NanoFCM. Конечная концентрация PMP из лимона, меченных 488, составляла $2,91 \times 10^{12}$ PMP/мл со средним размером AF488-PMP 79,4 нм +/- 14,7 нм, и эффективностью мечения 89,4% (фиг. 12A).

b) Поглощение PMP из лимона, меченых AF488, растительными клетками

Линии клеток растений приобретали в Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ) (*Glycine max*, № PC-1026; *Triticum aestivum*, № PC-998) и ABRC (*Zea mays*, Black Mexican sweet (BMS)), и выращивали в вентилируемых колбах объемом 250 мл с дефлекторами в темноте при 24°C и перемешивании (110 об./мин.). *Glycine max* и *Triticum aestivum* выращивали в 3,2 г/л базальной среде Гамборга В-5 с добавлением минимального количества органических веществ (G5893, Millipore Sigma) pH 5,5, с добавлением 2% сахарозы и 2 мг/л 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4D) (D7299, Millipore Sigma) в соответствии с инструкциями поставщика. Клетки BMS выращивали в базовой среде Мурасиге-Скуга pH 5,8, содержащей 4,3 г/л смеси основных солей Мурасиге-Скуга (Sigma M5524), 2% сахарозы (S0389, Millipore Sigma), 1x раствор витаминов MS (M3900, Millipore Sigma), 2 мг/л 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (D7299, Millipore Sigma) и 250 мкг/л тиамина HCL (V-014, Millipore Sigma).

В случае обработки с помощью AF488-PMP отбирали 5 мл суспензий клеток для определения процента объема клеточной массы (PCV). PCV определяли как объем клеток, деленный на общий объем аликвоты культуры клеток и выраженный в процентах. Клетки центрифугировали в течение 5 мин. при 3900 об./мин. и определяли объем клеточного осадка. % PCV для BMS, *Glycine max*, and *Triticum aestivum* составлял 20%, 15% и 18% соответственно. В случае эксперимента по поглощению % PCV культур доводили до 2% путем разбавления клеток в их соответствующей среде. Затем 125 мкл суспензий клеток растений добавляли в 24-луночный планшет, и образцы в двойных повторностях обрабатывали с помощью отдельно 125 мкл буфера MES (200 mM MES+10 mM NaCl, pH 6) (отрицательный контроль), только красителя AF488 (контроль, содержащий только краситель) или конечной концентрации 1×10^{12} AF488-PMP/мл, разведенных в буфере MES до 125 мкл. Клетки инкубировали в течение 2 часов при 24°C в темноте, трижды промывали 1 мл буфера MES для удаления AF488-PMP или свободного красителя, который не поглотился, и ресуспендировали в 300 мкл буфера MES для визуализации на эпифлуоресцентном микроскопе (EVOS FL Auto 2, Invitrogen). По сравнению с контролем, содержащим только краситель AF488, который не характеризовался обнаруживаемой флуоресценцией, во всех линиях клеток растений можно было обнаружить сигнал флуоресценции различной интенсивности, что указывает на поглощение PMP (фиг. 12B). Клетки *Triticum aestivum* демонстрировали наиболее сильный сигнал флуоресценции, что указывало на то, что из трех исследованных линий клеток растений они характеризовались наиболее высоким уровнем поглощения PMP из лимона, меченных AF488.

Данные авторов настоящего изобретения показывают, что РМР могли поглощаться растительными клетками *in vitro*.

Пример 27. Поглощение РМР растениями

В этом примере продемонстрирована способность РМР поглощаться и подвергаться системному транспортированию *in planta*. В этом примере РМР из грейпфрута, лимона и проростков *Arabidopsis thaliana* применяли в качестве модельных РМР, а проростки растения рода *Arabidopsis* и проростки люцерны применяли в качестве модельных растений.

a) Мечение РМР из лимона и грейпфрута сложным эфиром NHS и DyLight 800

РМР из грейпфрута и лимона получали, как описано в **примерах 19а и 19б**. РМР метили ковалентным красителем для мембран, представляющим собой сложный эфир NHS и DyLight 800 (Life Technologies, № 46421) (DyL800). Вкратце, DyL800 растворяли в DMSO до конечной концентрации 10 мг/мл, 200 мкл РМР смешивали с 5 мкл красителя, инкубировали в течение 1 ч. при комнатной температуре на шейкере, меченые РМР промывали 2-3 раза с помощью ультрацентрифугирования при 100000 x g в течение 1 ч. при 4°C и осадки ресуспендировали в 1,5 мл ультрачистой воды. Для контроля наличия потенциальных агрегатов красителя готовили контрольный образец, содержащий только краситель, в соответствии с той же процедурой, добавив 200 мкл ультрачистой воды вместо РМР. Конечный осадок РМР, меченных DyL800, и контроль, содержащий только краситель DyL800, ресуспендировали в минимальном количестве ультрачистой воды и характеризовали с помощью NanoFCM. Конечная концентрация РМР из грейпфрута, меченых DyL800, составляла $4,44 \times 10^{12}$ РМР/мл, а РМР из лимона, меченых DyL800, составляла $5,18 \times 10^{12}$ РМР/мл. Эффективность мечения невозможно было определить с помощью NanoFCM, так как он не обнаруживает инфракрасное излучение.

b) Прорастание и рост проростков Arabidopsis thaliana

Семена *Arabidopsis thaliana* Col-0 дикого типа получали из ABRC и подвергали поверхностной стерилизации 70% этанолом, инкубировали с 50% отбеливателем/0,1% Triton X-100 в течение 10 минут и 4 раза промывали стерильной ddH₂O для удаления раствора отбеливателя. Семена стратифицировали в течение 1 дня при 4°C в темноте. Проращивали примерно по 250 семян на планшет площадью 100 см² (предварительно покрытый 0,5% раствором фетальной телячьей сыворотки в воде), содержащий 20 мл 0,5x MS-среды (2,15 г/л солей Мурасиге-Скуга, 1% сахарозы, pH 5,8), запечатанном хирургической лентой 3М и выращивали в инкубаторе с фотопериодом 16 ч. света при 23°C/8 ч. темноты при 21°C.

c) Поглощение РМР из грейпфрута, лимона и At, меченных DyL800, Arabidopsis thaliana и люцерной

Для оценки того, могут ли РМР поглощаться и систематически транспортироваться *in planta*, проростки растения рода *Arabidopsis* проращивали в жидкой культуре, как описано в **примере 27б**, поверх сетчатого фильтра, чтобы обеспечить прорастание корней сквозь сетку и обеспечить частичное воздействие раствора РМР на проростки *At*.

Проростки люцерны приобретали в местном супермаркете. 9-дневные проростки растения рода *Arabidopsis* и проростки люцерны обрабатывали с помощью 0,5 мл раствора, представляющего собой воду (отрицательный контроль), содержащего только краситель DyL800 (контроль красителя), содержащего РМР из грейпфрута, меченные DyL800 ($1,6 \times 10^{10}$ РМР/мл) или РМР из лимона ($5,1 \times 10^{10}$ РМР/мл) в 0,5х MS-среде, путем частичного воздействия на корни (проростки *At* в сетке, плавающей в растворе РМР, или в проростках люцерны путем частичного воздействия на корни в пробирке Eppendorf объемом 1,5 мл) в течение 22 или 24 часов соответственно при 23°C. Затем растения промывали 3 раза MS-средой и проводили визуализацию с помощью инфракрасного сканера Odyssey® CLx (Li-Cor).

По сравнению с отрицательным контролем (некоторая автофлуоресценция в листьях проростков люцерны) и контролем, содержащим только краситель, все источники РМР демонстрировали сигнал флуоресценции (белый цвет представлял собой значительный сигнал флуоресценции, черный цвет представлял собой отсутствие сигнала) как в проростках растения рода *Arabidopsis*, так и в проростках люцерны, что указывало на поглощение РМР обоими растениями (фиг. 13). Наличие сигнала флуоресценции в листьях растения рода *Arabidopsis* или участках стеблей люцерны, которые не подвергались воздействию раствора РМР, указывало на активный транспорт РМР *in planta*. Поскольку концентрации средств для обработки на основе DyL800 в этом эксперименте не были нормализованы, было невозможно оценить различия в эффективности поглощения источника/мишени.

Данные авторов настоящего изобретения показали, что РМР, полученные из различных растительных источников, могли поглощаться и транспортироваться *in planta*.

Пример 28. Обработка проростков *Arabidopsis thaliana* с помощью РМР из грейпфрута, загруженных Док

В этом примере продемонстрирована способность РМР загружаться низкомолекулярным соединением с целью обеспечения снижения приспособленности растения. В этом примере доксорубицин применяли в качестве модельного низкомолекулярного соединения, а *Arabidopsis thaliana* применяли в качестве растения. Доксорубицин представляет собой цитотоксический антрациклиновый антибиотик, выделенный из культур *Streptomyces peucetius* var. *caesius*. Доксорубицин взаимодействует с ДНК путем интеркаляции и ингибирует как репликацию ДНК, так и транскрипцию РНК. Было показано, что доксорубицин является цитотоксичным в отношении растений (Culierez-Mac et al, *Plant Growth Regulation*, (5): 155-164, 1987).

Эффективные и безопасные гербициды необходимы для предупреждения значительных потерь урожая из-за сорняков, одновременно защищая окружающую среду от токсичных побочных эффектов чрезмерного использования гербицидов.

*а) Обработка проростков *Arabidopsis thaliana* с помощью РМР, загруженных доксорубицином*

РМР из грейпфрута получали и загружали доксорубицином, как описано в

примерах 24a и 24b. Семена *Arabidopsis thaliana* Col-0 дикого типа получали из ABRC, подвергали поверхностной стерилизации 50% отбеливателем, стратифицировали в течение 1-3 дней при 4°C и проращивали на среде Мурасиге-Скуга (MS) половинной концентрации (0,5x) с добавлением 0,5% сахарозы, 2,5 мМ MES, pH 5,6, содержащей 0,8% агара, с фотопериодом 16 ч. света при 23°C/8 ч. темноты при 21°C.

Для проверки того, могут ли РМР доставлять груз в виде низкомолекулярного соединения *in planta*, 7-дневные проростки *Arabidopsis thaliana* переносили в 0,5X жидкую MS-среду в 24-луночном планшете (1 проросток на лунку) и обрабатывали свободным DOX или РМР, загруженными DOX, с дозой инкапсулированного DOX, составляющей 0 (отрицательный контроль), 25 мкМ, 50 мкМ и 100 мкМ. Планшет покрывали алюминиевой фольгой и инкубировали в течение 24 часов. Среду, содержащую DOX, удаляли, проростки промывали два раза ½X MS-средой и добавляли свежую среду. Проростки инкубировали в течение еще 3 дней при нормальном фотопериоде (16 ч. света при 23°C/8 ч. темноты при 21°C). Затем проростки извлекали из планшета и сушили полотенцем для визуализации, а цитотоксичность оценивали с помощью анализа силы роста листьев, цвета листьев и длины корней. Цитотоксичность определяли по укорочению корней, потере силы роста листьев и обесцвечиванию листьев (желтый вместо зеленого) по сравнению с контрольными необработанными проростками. По сравнению со свободным DOX, который проявлял цитотоксичность только при 100 мкМ DOX (укорочение корня и изменение цвета листьев), РМР, нагруженные DOX, были цитотоксичными при 50 мкМ и 100 мкМ DOX. У проростков, обработанных 50 мкМ РМР-DOX, наблюдали сильное пожелтение листьев при пониженной силе роста листьев и укорочении корней. Данные авторов настоящего изобретения показали, что РМР могли загружаться и могли доставлять низкомолекулярное соединение *in planta*, и что РМР, загруженные доксорубицином, в два раза эффективнее вызывали цитотоксический ответ, чем свободный доксорубицин.

Другие варианты осуществления

Некоторые варианты осуществления настоящего изобретения находятся в следующих пронумерованных абзацах.

1. Композиция для контроля вредителей, содержащая совокупность пакетов-мессенджеров растений (РМР), где композиция составлена для доставки в отношении растения, и где композиция содержит по меньшей мере 5% РМР.

2. Композиция для контроля вредителей, содержащая совокупность РМР, где композиция составлена для доставки в отношении вредителя растения, и где композиция содержит по меньшей мере 5% РМР.

3. Композиция для контроля вредителей в соответствии с абзацем 1 или абзацем 2, где композиция является стабильной в течение по меньшей мере одного дня при комнатной температуре и/или является стабильной в течение по меньшей мере одной недели при 4°C.

4. Композиция для контроля вредителей, содержащая совокупность РМР, где

композиция является стабильной в течение по меньшей мере одного дня при комнатной температуре и/или является стабильной в течение по меньшей мере одной недели при 4°C.

5. Композиция для контроля вредителей в соответствии с абзацем 4, где композиция составлена для доставки в отношении растений.

6. Композиция для контроля вредителей в соответствии с абзацем 4, где композиция составлена для доставки в отношении вредителя растения.

7. Композиция для контроля вредителей в соответствии с любым из абзацев 1-6, где РМР являются стабильными в течение по меньшей мере 24 часов, 48 часов, семи дней или 30 дней.

8. Композиция для контроля вредителей в соответствии с абзацем 7, где РМР являются стабильными при температуре по меньшей мере 24°C, 20°C или 4°C.

9. Композиция для контроля вредителей в соответствии с любым из абзацев 1-8, где совокупность РМР в композиции находится в концентрации, эффективной для обеспечения снижения приспособленности вредителя растения.

10. Композиция для контроля вредителей, содержащая совокупность РМР, и где совокупность РМР в композиции находится в концентрации, эффективной для обеспечения снижения приспособленности вредителя растения.

11. Композиция для контроля вредителей в соответствии с абзацем 10, где композиция составлена для доставки в отношении растения.

12. Композиция для контроля вредителей в соответствии с абзацем 10, где композиция составлена для доставки в отношении вредителя растения.

13. Композиция для контроля вредителей в соответствии с любым из абзацев 10-12, где композиция является стабильной в течение по меньшей мере одного дня при комнатной температуре и/или является стабильной в течение по меньшей мере одной недели при 4°C.

14. Композиция для контроля вредителей в соответствии с любым из абзацев 9-13, где РМР содержит совокупность белков РМР, а концентрация РМР представляет собой концентрацию в них белков РМР.

15. Композиция для контроля вредителей в соответствии с любым из абзацев 9-14, где совокупность РМР в композиции находится в концентрации по меньшей мере 0,01 нг, 0,1 нг, 1 нг, 2 нг, 3 нг, 4 нг, 5 нг, 10 нг, 50 нг, 100 нг, 250 нг, 500 нг, 750 нг, 1 мкг, 10 мкг, 50 мкг, 100 мкг или 250 мкг белка РМР/мл.

16. Композиция для контроля вредителей в соответствии с любым из абзацев 1-15, где каждый из совокупности РМР содержит очищенную внеклеточную везикулу растения (EV) или ее сегмент или экстракт.

17. Композиция для контроля вредителей, содержащая совокупность РМР, где каждый из РМР представляет собой EV растения или ее сегмент или экстракт, и где композиция составлена для доставки в отношении растения.

18. Композиция для контроля вредителей, содержащая совокупность РМР, где РМР представляет собой EV растения или ее сегмент или экстракт, и где композиция

составлена для доставки в отношении вредителя.

19. Композиция для контроля вредителей в соответствии с абзацем 17 или абзацем 18, где композиция является стабильной в течение по меньшей мере одного дня при комнатной температуре и/или является стабильной в течение по меньшей мере одной недели при 4°C.

20. Композиция для контроля вредителей в соответствии с любым из абзацев 17-19, где совокупность РМР в композиции находится в концентрации, эффективной для обеспечения снижения приспособленности вредителя растения.

21. Композиция для контроля вредителей в соответствии с любым из абзацев 16-20, где EV растения представляет собой модифицированную внеклеточную везикулу растения (EV).

22. Композиция для контроля вредителей в соответствии с абзацем 21, где выделенная EV растения представляет собой экзосому растения или микровезикулу растения.

23. Композиция для контроля вредителей в соответствии с любым из абзацев 1-22, где совокупность РМР дополнительно содержит репеллент против вредителей.

24. Композиция для контроля вредителей, содержащая совокупность РМР, где каждый из совокупности РМР содержит гетерогенное пестицидное средство, и где композиция составлена для доставки в отношении растения или вредителя растения.

25. Композиция для контроля вредителей в соответствии с абзацем 1, где гетерологичное пестицидное средство представляет собой гербицидное средство, противобактериальное средство, противогрибковое средство, инсектицидное средство, моллюскицидное средство или нематоцидное средство.

26. Композиция для контроля вредителей в соответствии с абзацем 2, где гербицидное средство представляет собой доксорубицин.

27. Композиция для контроля вредителей в соответствии с абзацем 2, где гербицидное средство представляет собой глюфосинат, глифосат, пропаквизафоп, метамитрон, метазахлор, пендиметалин, флуфенацет, дифлуфеникан, кломазон, никосульфурон, мезотрион, пиноксаден, сулькотрион, просульфокарб, сульфентразон, бифенокс, квинмерак, триаллат, тербутилазин, атразин, оксифлуорфен, диурон, трифлуралин или хлортолурун.

28. Композиция для контроля вредителей в соответствии с абзацем 2, где противобактериальное средство представляет собой доксорубицин.

29. Композиция для контроля вредителей в соответствии с абзацем 2, где противобактериальное средство представляет собой антибиотик.

30. Композиция для контроля вредителей в соответствии с абзацем 6, где антибиотик представляет собой ванкомицин.

31. Композиция для контроля вредителей в соответствии с абзацем 6, где антибиотик представляет собой пенициллин, цефалоспорин, тетрациклин, макролид, сульфонамид, ванкомицин, полимиксин, грамицидин, хлорамфеникол, клиндамицин,

спектиномицин, ципрофлоксацин, изониазид, рифампицин, пиразинамид, этамбутол, миамбутол или стрептомицин.

32. Композиция для контроля вредителей в соответствии с абзацем 2, где противогрибковое средство представляет собой азоксистробин, манкозеп, протиоконазол, фолпет, тебуконазол, дифеноконазол, каптан, бупиримат или фозетил-А1.

33. Композиция для контроля вредителей в соответствии с абзацем 2, где инсектицидное средство представляет собой хлорникотинил, неоникотиноид, карбамат, фосфорорганическое соединение, пиретроид, оксадиазин, спинозин, циклодиен, хлорорганическое соединение, фипрол, мектин, диацилгидразин, бензоилмочевину, орнаноцилмочевину, пиррол, динитротерпенол, МЕТ1, тетрановую кислоту, тетрамовую кислоту или фталамид.

34. Композиция для контроля вредителей в соответствии с абзацем 1, где гетерологичное пестицидное средство представляет собой низкомолекулярное соединение, нуклеиновую кислоту или полипептид.

35. Композиция для контроля вредителей в соответствии с абзацем 11, где малая молекула представляет собой антибиотик или вторичный метаболит.

36. Композиция для контроля вредителей в соответствии с абзацем 11, где нуклеиновая кислота представляет собой ингибирующую РНК.

37. Композиция для контроля вредителей в соответствии с любым из абзацев 1-13, где гетерологичное пестицидное средство инкапсулировано каждым из совокупности РМР.

38. Композиция для контроля вредителей в соответствии с любым из абзацев 1-13, где гетерологичное пестицидное средство встроено в поверхность каждого из совокупности РМР.

39. Композиция для контроля вредителей в соответствии с любым из абзацев 1-13, где гетерологичное пестицидное средство конъюгировано с поверхностью каждого из совокупности РМР.

40. Композиция для контроля вредителей в соответствии с любым из абзацев 1-16, где каждый из совокупности РМР дополнительно содержит репеллент против вредителей.

41. Композиция для контроля вредителей в соответствии с любым из абзацев 1-17, где каждый из совокупности РМР дополнительно содержит дополнительное гетерологичное пестицидное средство.

42. Композиция для контроля вредителей в соответствии с любым из абзацев 1-18, где вредитель растения представляет собой бактерию или грибок.

43. Композиция для контроля вредителей в соответствии с абзацем 19, где бактерия относится к виду *Pseudomonas*.

44. Композиция для контроля вредителей в соответствии с абзацем 20, где вид *Pseudomonas* представляет собой *Pseudomonas aeruginosa* или *Pseudomonas syringae*.

45. Способ в соответствии с абзацем 19, где грибок относится к виду *Sclerotinia*, виду *Botrytis*, виду *Aspergillus*, виду *Fusarium* или виду *Penicillium*.

46. Композиция для контроля вредителей в соответствии с любым из абзацев 1-28, где вредитель растения представляет собой насекомое, моллюска или нематоду.

47. Композиция для контроля вредителей в соответствии с абзацем 23, где насекомое представляет собой тлю или чешуекрылое.

48. Композиция для контроля вредителей в соответствии с абзацем 23, где нематода представляет собой кукурузную галловую нематоду.

49. Композиция для контроля вредителей в соответствии с любым из абзацев 1-25, где композиция является стабильной в течение по меньшей мере одного дня при комнатной температуре и/или является стабильной в течение по меньшей мере одной недели при 4°C.

50. Композиция для контроля вредителей в соответствии с любым из абзацев 1-25, где РМР являются стабильными в течение по меньшей мере 24 часов, 48 часов, семи дней или 30 дней при 4°C.

51. Композиция для контроля вредителей в соответствии с абзацем 27, где РМР являются стабильными при температуре по меньшей мере 20°C, 24°C или 37°C.

52. Композиция для контроля вредителей в соответствии с любым из абзацев 1-28, где совокупность РМР в композиции находится в концентрации, эффективной для обеспечения снижения приспособленности вредителя растения.

53. Композиция для контроля вредителей в соответствии с любым из абзацев 1-29, где совокупность РМР в композиции находится в концентрации по меньшей мере 0,01 нг, 0,1 нг, 1 нг, 2 нг, 3 нг, 4 нг, 5 нг, 10 нг, 50 нг, 100 нг, 250 нг, 500 нг, 750 нг, 1 мкг, 10 мкг, 50 мкг, 100 мкг или 250 мкг белка РМР/мл.

54. Композиция для контроля вредителей в соответствии с любым из абзацев 1-30, где композиция содержит приемлемый с точки зрения сельского хозяйства носитель.

55. Композиция для контроля вредителей в соответствии с любым из абзацев 1-31, где композиция составлена для стабилизации РМР.

56. Композиция для контроля вредителей в соответствии с любым из абзацев 1-32, где композиция составлена в виде жидкой, твердой, аэрозольной, пастообразной, гелеобразной или газообразной композиции.

57. Композиция для контроля вредителей в соответствии с абзацем 1, где композиция содержит по меньшей мере 5% РМР.

58. Композиция для контроля вредителей, содержащая совокупность РМР, при этом РМР выделяют из растения с помощью способа, который предусматривает стадии (а) получения исходного образца из растения или его части, при этом растение или его часть содержит EV; (b) выделения фракции неочищенных РМР из исходного образца, при этом фракция неочищенных РМР имеет сниженный уровень по меньшей мере одного контаминанта или нежелательного компонента из растения или его части по сравнению с уровнем в исходном образце; (с) очистки фракции неочищенных РМР с получением совокупности чистых РМР, при этом совокупность чистых РМР имеет сниженный уровень по меньшей мере одного контаминанта или нежелательного компонента из

растения или его части по сравнению с уровнем во фракции неочищенных EV; (d) загрузки совокупности чистых РМР со средством борьбы с вредителями; и (e) составления РМР из стадии (d) для доставки растению или вредителю растения.

59. Растение, содержащее композицию для контроля вредителей в соответствии с любым из абзацев 1-35.

60. Вредитель растения, содержащий композицию для контроля вредителей в соответствии с любым из абзацев 1-35.

61. Способ доставки композиции для контроля вредителей в растение, предусматривающий приведение растения в контакт с композицией в соответствии с любым из абзацев 1-35.

62. Способ повышения приспособленности растения, при этом способ предусматривает доставку по отношению к растению композиции в соответствии с любым из абзацев 1-35, при этом способ увеличивает приспособленность растения по сравнению с необработанным растением.

63. Способ в соответствии с абзацем 38 или абзацем 39, где растение заражено вредителем растения.

64. Способ в соответствии с абзацем 40, где способ снижает заражение по сравнению с заражением необработанного растения.

65. Способ в соответствии с абзацем 40, где способ значительно устраняет заражение по сравнению с заражением необработанного растения.

66. Способ в соответствии с абзацем 38 или абзацем 39, где растение подвержено заражению вредителем растения.

67. Способ в соответствии с абзацем 43, где способ снижает вероятность заражения растения по сравнению с вероятностью заражения необработанного растения.

68. Способ в соответствии с любым из абзацев 40-44, где вредитель растения представляет собой бактерию или гриб.

69. Способ в соответствии с абзацем 45, где бактерия относится к виду *Pseudomonas*.

70. Способ в соответствии с абзацем 45, где гриб относится к виду *Sclerotinia*, виду *Botrytis*, виду *Aspergillus*, виду *Fusarium* или виду *Penicillium*.

71. Способ в соответствии с любым из абзацев 40-44, где вредитель растения представляет собой насекомое, моллюска или нематоду.

72. Способ в соответствии с абзацем 48, где насекомое представляет собой тлю или чешуекрылое.

73. Способ в соответствии с абзацем 48, где нематода представляет собой кукурузную галловую нематоду.

74. Способ в соответствии с любым из абзацев 38-50, где композицию для контроля вредителей доставляют в виде жидкости, твердого вещества, аэрозоля, пасты, геля или газообразного вещества.

75. Способ доставки композиции для контроля вредителей вредителю растения,

предусматривающий приведение вредителя растения в контакт с композицией в соответствии с любым из абзацев 1-36.

76. Способ снижения приспособленности вредителя растения, при этом способ предусматривает доставку по отношению к вредителю растения композиции в соответствии с любым из абзацев 1-36, при этом способ снижает приспособленность вредителя растения по сравнению с необработанным вредителем растения.

77. Способ в соответствии с абзацем 52 или абзацем 53, где способ предусматривает доставку композиции в по меньшей мере одну среду обитания, в которой растение растет, живет, размножается, питается или осуществляет заражение.

78. Способ в соответствии с любым из абзацев 52-54, где композицию доставляют в виде композиции, съедобной для вредителя растения, для поглощения вредителем растения.

79. Способ в соответствии с любым из абзацев 52-55, где вредитель растения представляет собой бактерию или гриб.

80. Способ в соответствии с любым из абзацев 52-55, где вредитель растения представляет собой насекомое, моллюска или нематоду.

81. Способ в соответствии с абзацем 57, где насекомое представляет собой тлю или чешуекрылое.

82. Способ в соответствии с абзацем 57, где нематода представляет собой кукурузную корневую галловую нематоду.

83. Способ в соответствии с любым из абзацев 52-59, где композицию доставляют в виде жидкости, твердого вещества, аэрозоля, пасты, геля или газообразного вещества.

84. Способ обработки растения, пораженного грибковой инфекцией, при этом способ предусматривает доставку по отношению к растению композиции для контроля вредителей, содержащей совокупность РМР.

85. Способ обработки растения, пораженного грибковой инфекцией, при этом способ предусматривает доставку по отношению к растению композиции для контроля вредителей, содержащей совокупность РМР, и при этом каждый из совокупности РМР содержит противогрибковое средство.

86. Способ в соответствии с абзацем 62, где противогрибковое средство представляет собой нуклеиновую кислоту, которая подавляет экспрессию гена гриба, вызывающего грибковую инфекцию.

87. Способ в соответствии с абзацем 63, где ген представляет собой ген *dcl1* и/или *dcl2*.

88. Способ в соответствии с любым из абзацев 61-64, где грибковая инфекция вызвана грибом, принадлежащим к виду *Sclerotinia*, виду *Botrytis*, виду *Aspergillus*, виду *Fusarium* или виду *Penicillium*.

89. Способ в соответствии с абзацем 65, где вид *Sclerotinia* представляет собой *Sclerotinia sclerotiorum*.

90. Способ в соответствии с абзацем 65, где вид *Botrytis* представляет собой *Botrytis*

cinerea.

91. Способ в соответствии с любым из абзацев 61-67, где композиция представляет собой композицию, которая содержит РМР, полученный из растения рода *Arabidopsis*.

92. Способ в соответствии с любым из абзацев 61-68, где способ снижает или в значительной степени устраняет грибковую инфекцию.

93. Способ обработки растения, пораженного бактериальной инфекцией, при этом способ предусматривает доставку по отношению к растению композиции для контроля вредителей, содержащей совокупность РМР.

94. Способ обработки растения, пораженного бактериальной инфекцией, при этом способ предусматривает доставку по отношению к растению композиции для контроля вредителей, содержащей совокупность РМР, и при этом каждый из совокупности РМР содержит противобактериальное средство.

95. Способ в соответствии с абзацем 71, где противобактериальное средство представляет собой доксорубицин.

96. Способ в соответствии с любым из абзацев 70-72, где бактериальная инфекция вызвана бактерией, принадлежащей к *Pseudomonas spp.*

97. Способ в соответствии с абзацем 73, где *Pseudomonas spp.* представляет собой *Pseudomonas syringae*.

98. Способ в соответствии с любым из абзацев 70-74, где композиция представляет собой композицию, которая содержит РМР, полученный из растения рода *Arabidopsis*.

99. Способ в соответствии с любым из абзацев 70-75, где способ снижает или значительно устраняет бактериальную инфекцию.

100. Способ снижения приспособленности насекомого, являющегося вредителем растения, при этом способ предусматривает доставку по отношению к насекомому, являющемуся вредителем растения, композиции для контроля вредителей, содержащей совокупность РМР.

101. Способ снижения приспособленности насекомого, являющегося вредителем растения, при этом способ предусматривает доставку по отношению к насекомому, являющемуся вредителем растения композиции для контроля вредителей, содержащей совокупность РМР, и при этом каждый из совокупности РМР содержит инсектицидное средство.

102. Способ в соответствии с абзацем 78, где инсектицидное средство представляет собой пептидную нуклеиновую кислоту.

103. Способ в соответствии с любым из абзацев 77-79, где насекомое, являющееся вредителем растения, представляет собой тлю.

104. Способ в соответствии с любым из абзацев 77-79, где насекомое, являющееся вредителем растения, представляет собой чешуекрылое.

105. Способ в соответствии с абзацем 81, где чешуекрылое представляет собой *Spodoptera frugiperda*.

106. Способ в соответствии с любым из абзацев 77-82, где способ снижает

приспособленность насекомого, являющегося вредителем растения, по сравнению с необработанным насекомым, являющимся вредителем растения.

107. Способ снижения приспособленности нематоды, являющейся вредителем растения, при этом способ предусматривает доставку по отношению к нематоды, являющейся вредителем растения, композиции для контроля вредителей, содержащей совокупность РМР.

108. Способ снижения приспособленности нематоды, являющейся вредителем растения, при этом способ предусматривает доставку по отношению к нематоды, являющейся вредителем растения, композиции для контроля вредителей, содержащей совокупность РМР, и при этом каждый из совокупности РМР содержит нематоцидное средство.

109. Способ в соответствии с абзацем 85, где нематоцидное средство представляет собой пептид.

110. Способ в соответствии с абзацем 86, где пептид представляет собой Mi-NLP-15b.

111. Способ в соответствии с любым из абзацев 84-88, где нематода, являющаяся вредителем растения, представляет собой кукурузную корневую галловую нематоду.

112. Способ в соответствии с любым из абзацев 84-88, где способ снижает приспособленность нематоды, являющейся вредителем растения, по сравнению с необработанной нематодой, являющейся вредителем растения.

113. Способ снижения приспособленности сорняка, при этом способ предусматривает доставку по отношению к сорняку композиции для контроля вредителей, содержащей совокупность РМР.

114. Способ снижения приспособленности сорняка, при этом способ предусматривает доставку по отношению к сорняку композиции для контроля вредителей, содержащей совокупность РМР, и при этом каждый из совокупности РМР содержит гербицидное средство.

115. Способ в соответствии с абзацем 90 или абзацем 91, где способ снижает приспособленность сорняка по сравнению с необработанным сорняком.

Несмотря на то, что вышеизложенное изобретение было достаточно подробно описано с помощью иллюстраций и примеров в целях ясности понимания, описания и примеры не следует истолковывать как ограничивающие объем настоящего изобретения. Раскрытия всех источников патентной и научной литературы, цитируемых в данном документе, явным образом включено в их полном объеме посредством ссылки.

Другие варианты осуществления представлены в формуле изобретения.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Таблица 1: Маркеры растительной EV		
Примеры разновидностей	№ доступа	Название белка

Arabidopsis thaliana	C0LGG8	Вероятная LRR-рецептор-подобная сериновая/треониновая протеинкиназа At1g53430 (EC 2.7.11.1)
Arabidopsis thaliana	F4HQ78	Неохарактеризованный белок
Arabidopsis thaliana	F4HWU0	Белок суперсемейства протеинкиназ
Arabidopsis thaliana	F4I082	Бифункциональный ингибитор/белок-переносчик липидов/запасной белок суперсемейства альбуминов 2S
Arabidopsis thaliana	F4I3M3	Киназа с белком, содержащим домен тетратрикопептидного повтора
Arabidopsis thaliana	F4IB62	Белок семейства протеинкиназ с лейцин-богатыми повторами
Arabidopsis thaliana	O03042	Крупная цепь рибулозобифосфаткарбоксилазы (большая субъединица RuBisCO) (EC 4.1.1.39)
Arabidopsis thaliana	O03986	Белок теплового шока 90-4 (AtHSP90.4) (AtHsp90-4) (белок теплового шока 81-4) (Hsp81-4)
Arabidopsis thaliana	O04023	Гомолог белка SRC2 (AtSRC2)
Arabidopsis thaliana	O04309	Родственный джакалину лептин 35 (JA-чувствительный белок 1) (подобный мирозиназа-связывающему белку At3g16470)
Arabidopsis thaliana	O04314	РНК10-связывающий белок 1 (родственный джакалину лектин 30) (белок, индуцируемый жасмоновой кислотой)
Arabidopsis thaliana	O04922	Вероятная глутатионпероксидаза 2 (EC 1.11.1.9)
Arabidopsis thaliana	O22126	Фасцилин-подобный арабиногалактановый белок 8 (AtAGP8)
Arabidopsis thaliana	O23179	Пататин-подобный белок 1 (AtPLP1) (EC 3.1.1.-) (родственная пататину фосфолипаза А II гамма) (pPLAIIg) (фосфолипаза А IVA) (AtPLAIVA)
Arabidopsis thaliana	O23207	Вероятная NAD(P)H дегидрогеназа (хинон) FQR1-подобная 2 (EC 1.6.5.2)
Arabidopsis thaliana	O23255	Аденозилгомоцистеиназа 1 (адоНциаза 1) (EC 3.3.1.1) (Белок ЭМБРИОДЕФЕКТНЫЙ 1395)

		(Белок, осуществляющий сайленсинг генов, зависимый от гомологии 1) (S-аденозил-L-гомоцистеингидролаза 1) (SAH-гидролаза 1)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	O23482	Переносчик олигопептидов 3 (AtOPT3)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	O23654	Каталитическая субъединица A протонной АТФазы V-типа (субъединица A V-АТФазы) (EC 3.6.3.14) (субъединица V-АТФазы 69 кДа) (Вакуолярная H(+)-субъединица A АТФазы) (субъединица альфа вакуолярного протонного насоса)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	O48788	Вероятная неактивная рецепторная киназа At2g26730
<i>Arabidopsis thaliana</i>	O48963	Фототропин-1 (EC 2.7.11.1) (нефототропный белок 1 гипокотиля) (фототропный белок 1 корня)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	O49195	Запасной растительный белок 1
<i>Arabidopsis thaliana</i>	O50008	5-метилтетрагидроптероилтриглутамат-гомоцистеинметилтрансфераза 1 (EC 2.1.1.14) (кобаламин-независимая метионинсинтаза 1) (AtMS1) (витамин-B12-независимая метионинсинтаза 1)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	O64696	Предполагаемый неохарактеризованный белок At2g34510
<i>Arabidopsis thaliana</i>	O65572	Каротиноид 9,10 (9',10')-расщепляющая диоксигеназа 1 (EC 1.14.99.n4) (AtCCD1) (фермент, расщепляющий неоксантин NC1) (AtNCED1)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	O65660	Белок 1, содержащий домен PLAT (AtPLAT1) (белок 1 с доменом PLAT)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	O65719	Белок 3 теплового шока с молекулярным весом 70 кДа (когнатный белок 3 теплового шока 70 кДа) (когнатный белок теплового шока 70-3) (AtHsc70-3) (белок теплового шока 70-3) (AtHsp70-3)

Arabidopsis thaliana	O80517	Уклацианин-2 (синий медьсвязывающий белок II) (BCB II) (Фитоцианин 2) (Уклацианин-II)
Arabidopsis thaliana	O80576	At2g44060 (избыточный белок позднего эмбриогенеза, группа 2) (аналогичный избыточному белку позднего эмбриогенеза)
Arabidopsis thaliana	O80725	Представитель 4 семейства ABC-транспортёров В (ABC-переносчик ABCB.4) (AtABCB4) (белок множественной лекарственной устойчивости 4) (Р-гликопротеин 4)
Arabidopsis thaliana	O80837	Реморин (ДНК-связывающий белок)
Arabidopsis thaliana	O80852	Глутатион-S-трансфераза F9 (AtGSTF9) (EC 2.5.1.18) (AtGSTF7) (представитель 9 GST класса phi)
Arabidopsis thaliana	O80858	Экспрессируемый белок (предполагаемый неохарактеризованный белок At2g30930) (предполагаемый неохарактеризованный белок At2g30930; F7F1.14)
Arabidopsis thaliana	O80939	Рецепторная киназа IV.1, содержащая лектиновый домен L-типа, (лектин-рецепторная киназа e Arabidopsis thaliana) (AthlecRK-e) (LecRK-IV.1) (EC 2.7.11.1) (киназа лектинового рецептора 1)
Arabidopsis thaliana	O80948	Родственный джакалину лептин 23 (подобный мирозиназа-связывающему белку At2g39330)
Arabidopsis thaliana	O82628	Субъединица G1 протонной АТФазы V-типа (субъединица V-АТФазы G1) (вакуолярная H(+)-изоформа 1 субъединицы АТФазы G) (Субъединица G1 вакуолярной протонной помпы)
Arabidopsis thaliana	P10795	Малая цепь 1A рибулозобисфосфаткарбоксилазы, хлоропластная (малая субъединица 1A RuBisCO) (EC 4.1.1.39)
Arabidopsis thaliana	P10896	Рибулозобисфосфаткарбоксилаза/активаза оксигеназы, хлоропластная (RA) (активаза

		RuBisCO)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	P17094	Рибосомальный белок L3-1 субъединицы 60S (белок ЭМБРИОДЕФЕКТИВНЫЙ 2207)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	P19456	АТФаза 2 типа плазматической мембраны (ЕС 3.6.3.6) (Протонный насос 2)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	P20649	АТФаза 1 типа плазматической мембраны (ЕС 3.6.3.6) (Протонный насос 1)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	P22953	Вероятный медиатор транскрипционной субъединицы РНК-полимеразы II 37e (белок 1 теплового шока 70 кДа) (когнатный белок 1 теплового шока 70 кДа) (когнатный белок теплового шока 70-1) (AtHsc70-1) (белок теплового шока, 70-1) (AtHsp70 -1) (белок 2, реагирующий на раннее обезвоживание)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	P23586	Белок 1 транспорта сахаров (транспортер глюкозы) (транспортер 1 гексозы)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	P24636	Цепь бета-4-тубулина (бета-4-тубулин)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	P25696	Бифункциональная енолаза 2/активатор транскрипции (ЕС 4.2.1.11) (2-фосфо-D-глицератгидролаза 2) (2-фосфоглицератдегидратаза 2) (НИЗКАЯ ЭКСПРЕССИЯ ОСМОТИЧЕСКИ ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ ГЕНОВ 1)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	P25856	Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа GAPA1, хлоропластная (ЕС 1.2.1.13) (NADP-зависимая субъединица 1 глицеральдегидфосфатдегидрогеназы А)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	P28186	Ras-родственный белок RABE1c (AtRABE1c) (Ras-родственный белок Aга-3) (Ras-родственный белок Rab8A) (AtRab8A)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	P30302	Аквапорин PIP2-3 (внутренний белок 2-3 плазматической мембраны) (AtPIP2; 3) (внутренний белок 2с плазматической мембраны) (PIP2с) (RD28-PIP) (TMP2C) (внутренний белок

		тонопласта, индуцируемый водным стрессом) (WSI-TIP) [расщепляется на: аквапорин PIP2-3, процессированный на N-конце]
<i>Arabidopsis thaliana</i>	P31414	Пирофосфат-активируемая вакуолярная мембранная протонная помпа 1 (EC 3.6.1.1) (пирофосфат-активируемая неорганическая пирофосфатаза 1) (H(+)-PPаза 1) (вакуумная протонная пирофосфатаза 1) (вакуумная протонная пирофосфатаза 3)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	P32961	Нитрилаза 1 (EC 3.5.5.1)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	P38666	Рибосомальный белок L24-2 субъединицы 60S (белок КОРОТКИЙ КЛАПАН 1)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	P39207	Нуклеозиддифосфаткиназа 1 (EC 2.7.4.6) (Нуклеозиддифосфаткиназа I) (NDK I) (NDP киназа I) (NDPK I)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	P42643	14-3-3-подобный белок GF14 chi (общий регуляторный фактор 1)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	P42737	Бета-карбоангидраза 2, хлоропластная (AtbCA2) (AtbetaCA2) (EC 4.2.1.1) (Бета-карбонатдегидратаза 2)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	P42759	Дегидрин ERD10 (Белок, индуцируемый низкой температурой, LTI45)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	P42761	Глутатион S-трансфераза F10 (AtGSTF10) (EC 2.5.1.18) (AtGSTF4) (представитель 10 GST class-phi) (Белок 13 РАННЕГО ОТВЕТА НА ОБЕЗВОЖИВАНИЕ)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	P42763	Дегидрин ERD14
<i>Arabidopsis thaliana</i>	P42791	Рибосомальный белок L18-2 субъединицы 60S
<i>Arabidopsis thaliana</i>	P43286	Аквапорин PIP2-1 (внутренний белок 2-1 плазматической мембраны) (AtPIP2; 1) (внутренний белок 2а плазматической мембраны) (PIP2а) [расщепляется на: аквапорин PIP2-1, процессированный на N-конце]
<i>Arabidopsis thaliana</i>	P46286	Рибосомальный белок L8-1 субъединицы 60s

		(60S рибосомальный белок L2) (белок ЭМБРИОДЕФЕКТИВНЫЙ 2296)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	P46422	Глутатион S-трансфераза F2 (AtGSTF2) (EC 2.5.1.18) (24 кДа, ауксин-связывающий белок) (AtPM24) (представитель 2 GST класса phi)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	P47998	Цистеинсинтаза 1 (EC 2.5.1.47) (At.OAS.5-8) (Бета-замещенная Ala-синтаза 1;1) (ARath-Bsas1;1) (CSase A) (AtCS-A) (Cys-3A) (O-ацетилсерин (тиол)-лиаза 1) (OAS-TL A) (O-ацетилсеринсульфгидрилаза) (Белок 3 НАСТУПЛЕНИЯ ОТМИРАНИЯ ЛИСТА)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	P48347	14-3-3-подобный белок GF14 эпсилон (общий регуляторный фактор 10)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	P48491	Триозофосфатизомераза, цитозольная (TIM) (триозофосфатизомераза) (EC 5.3.1.1)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	P50318	Фосфоглицераткиназа 2, хлоропластная (EC 2.7.2.3)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	P53492	Актин-7 (Актин-2)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	P54144	Переносчик 1 аммония, представитель 1 (AtAMT1;1)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	P92963	Ras-родственный белок RABB1c (AtRABB1c) (Ras-родственный белок Rab2A) (AtRab2A)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	P93004	Аквапорин PIP2-7 (внутренний белок 2-7 плазматической мембраны) (AtPIP2; 7) (внутренний белок 3 плазматической мембраны) (основной внутренний белок, индуцируемый солевым стрессом) [расщепляется на: аквапорин PIP2-7, процессированный на N-конце]
<i>Arabidopsis thaliana</i>	P93025	Фототропин-2 (EC 2.7.11.1) (дефектный в белке 1 избегания хлоропластов) (нефотропный гипокотил-1-подобный белок 1) (AtKin7) (NPH1-подобный белок 1)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	P93819	Малатдегидрогеназа 1, цитоплазматическая (EC 1.1.1.37) (цитозольная NAD-зависимая

		малатдегидрогеназа 1) (сNAD-MDH1) (цитозольная малатдегидрогеназа 1) (цитозольная MDH1)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q03250	Богатый глицином РНК-связывающий белок 7 (AtGR-RBP7) (AtRBG7) (Богатый глицином белок 7) (AtGRP7) (Белок ХОЛОДА, ЦИРКАДНОГО РИТМА И РНК-СВЯЗЫВАЮЩИЙ 2) (Белок CCR2)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q05431	L-аскорбатпероксидаза 1, цитозольная (AP) (AtAPx01) (EC 1.11.1.11)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q06611	Аквaporин PIP1-2 (AtPIP1; 2) (собственный белок 1b плазматической мембраны) (PIP1b) (трансмембранный белок A) (AthH2) (TMP-A)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q07488	Белок голубой меди (Голубой медь-связывающий белок) (AtBCB) (фитоцианин 1) (стеллацианин)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q0WLB5	Тяжелая цепь 2 клатрина
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q0WNI6	Тяжелая цепь 1 клатрина
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q1ECE0	Ассоциированный с везикулами белок 4-1 (растительный гомолог VAP 4-1) (AtPVA41) (Белок МЕМБРАНОАССОЦИИРОВАННЫЙ МАННИТ-ИНДУЦИРОВАННЫЙ) (AtMAMI) (VAMP-ассоциированный белок 4-1)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q38882	Фосфолипаза D альфа 1 (AtPLDalpha1) (PLD альфа 1) (EC 3.1.4.4) (Холинфосфатаза 1) (PLDalpha) (Фосфатидилхолин-гидролизующая фосфолипаза D 1)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q38900	Пептидилпролил-цис-транс-изомераза CYP19-1 (PPIase CYP19-1) (EC 5.2.1.8) (циклофилин 19 кДа 1) (Ротамаза-циклофилин-3)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q39033	Фосфоинозитидфосфолипаза C 2 (EC 3.1.4.11) (Фосфоинозитидфосфолипаза PLC2) (AtPLC2) (PI-PLC2)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q39085	Дельта(24)-стеролредуктаза (EC 1.3.1.72) (Белок клеточного удлинения DIMINUTO) (Белок

		клеточного удлинения Dwarf1) (Белок CABBAGE1) (Белок 1 УСИЛЕННОГО ОТВЕТА ОЧЕНЬ НИЗКОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q39228	Белок 4 транспорта сахаров (переносчик гексозы 4)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q39241	Тиоредоксин Н5 (AtTrxh5) (Белок "ЛОКУС НЕЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ВИКТОРИНУ 1") (тиоредоксин 5) (AtTRX5)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q39258	Субъединица E1 протонной АТФазы V-типа (субъединица E1 V-АТФазы) (ЭМБРИОДЕФЕКТИВНЫЙ Белок 2448) (Вакуолярная H(+)-изоформа 1 субъединицы E АТФазы) (Субъединица E1 вакуолярной протонной помпы)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q42112	Кислый рибосомальный белок P0-2 субъединицы 60S
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q42403	Тиоредоксин Н3 (AtTrxh3) (Тиоредоксин 3) (AtTRX3)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q42479	Кальций-зависимая протеинкиназа 3 (EC 2.7.11.1) (изоформа кальций-зависимой протеинкиназы CDPK6) (AtCDPK6)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q42547	Каталаза-3 (EC 1.11.1.6)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q56WH1	Цепь тубулина альфа-3
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q56WK6	Пателлин-1
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q56X75	CASP-подобный белок 4D2 (AtCASPL4D2)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q56ZI2	Пателлин-2
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q7Y208	Глицерофосфодиэфирфосфодиэстераза GDPDL1 (EC 3.1.4.46) (Глицерофосфодиэфирфосфодиэстераза-подобный 1) (ATGDPDL1) (Глицерофосфодиэстераза-подобный 3) (белок SHV3-LIKE 2)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q84VZ5	Неохарактеризованный GPI-заякоренный белок At5g19240

Arabidopsis thaliana	Q84WU7	Белок семейства эукариотических аспартилпротеаз (предположительный неохарактеризованный белок At3g51330)
Arabidopsis thaliana	Q8GUL8	Неохарактеризованный GPI-заякоренный белок At5g19230
Arabidopsis thaliana	Q8GYA4	Богатая цистеином рецептор-подобная протеинкиназа 10 (богатая цистеином RLK10) (EC 2.7.11.-) (рецептор-подобная протеинкиназа 4)
Arabidopsis thaliana	Q8GYN5	RPM1-взаимодействующий белок 4
Arabidopsis thaliana	Q8GZ99	At5g49760 (белок семейства протеинкиназ с богатыми лейцином повторами) (протеинкиназа, подобная рецептору с богатыми лейцином повторами) (предположительная рецепторная протеинкиназа)
Arabidopsis thaliana	Q8L636	Обменник натрия/кальция NCL (Na ⁺ /Ca ²⁺ -обменный белок NCL) (Белок NCX-подобный) (AtNCL)
Arabidopsis thaliana	Q8L7S1	At1g45200 (At1g45200/At1g45200) (триацилглицеринлипаза-подобный белок 1)
Arabidopsis thaliana	Q8LAA6	Вероятный аквапорин PIP1-5 (AtPIP1; 5) (внутренний белок 1d цитоплазматической мембраны) (PIP1d)
Arabidopsis thaliana	Q8LCP6	Эндоглюканаза 10 (EC 3.2.1.4) (Эндо-1,4-бета-глюканаза 10)
Arabidopsis thaliana	Q8RWV0	Транскетолаза-1, хлоропластная (ТК) (EC 2.2.1.1)
Arabidopsis thaliana	Q8S8Q6	Тетраспанин-8
Arabidopsis thaliana	Q8VZG8	MDIS1-взаимодействующий рецептор, подобный киназе 2 (AtMIK2) (вероятная LRR рецептор-подобная серин/треонин-протеинкиназа At4g08850) (EC 2.7.11.1)
Arabidopsis thaliana	Q8VZU2	Синтаксин-132 (AtSYP132)
Arabidopsis thaliana	Q8W4E2	Субъединица В3 протонной АТФазы V-типа (субъединица V-АТФазы В3) (Вакуолярная H ⁺)

		изоформа 3 субъединицы АТФазы В) (Субъединица В3 вакуолярной протонной помпы)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q8W4S4	Субъединица В3 протонной АТФазы V-типа (субъединица а3 V-АТФазы) (протонная АТФаза V-типа, субъединица а 95 кДа, изоформа 3) (V-АТФаза, изоформа а3 95 кДа) (Вакуолярная Н(+)-субъединица а АТФазы изоформа 3) (Вакуолярная субъединица протонной помпы а3) (Вакуолярная протон-транслоцирующая АТФаза, 95 кДа, субъединица а, изоформа 3)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q93VG5	Рибосомальный белок S8-1 субъединицы 40S
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q93XY5	Тетраспанин-18 (гомологичный белок 2 ТОМ2А)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q93YS4	Представитель 22 семейства АВС-переносчиков G (АВС-переносчик АВСG.22) (AtАВСG22) (Бело-коричневый комплексный гомологичный белок 23) (AtWBC23)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q93Z08	Глюкан-эндо-1,3-бета-глюкозидаза 6 (ЕС 3.2.1.39) ((1->3)-бета-глюканэндогидролаза 6) ((1->3)-бета-глюканаза 6) (Бета-1,3 -эндоглюканаза 6) (Бета-1,3-глюканаза 6)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q940M8	3-оксо-5-альфа-стероид-4-дегидрогеназа (DUF1295) (At1g73650/F25P22_7)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q944A7	Вероятная серин/треонинпротеинкиназа At4g35230 (ЕС 2.7.11.1)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q944G5	Белок СЕМЕЙСТВА NRT1/PTR 2.10 (AtNPF2.10) (белок-ТРАНСПОРТЕР ГЛЮКОЗИНОЛАТА-1)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q94AZ2	Белок транспорта сахаров 13 (переносчик гексозы 13) (многокопийный супрессор snf4-дефицитного белка 1)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q94BT2	Ауксин-индуцированный в культурах корней белок 12
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q94CE4	Бета-карбоангидраза 4 (AtbCA4) (AtbetaCA4) (ЕС 4.2.1.1) (Бета-карбонатдегидратаза 4)

Arabidopsis thaliana	Q94KI8	Белок 1 двухпорового кальциевого канала (белок 1 кальциевого канала) (AtCCH1) (белок 2, повышающий оксигенацию жирных кислот) (белок зависимого от напряжения кальциевого канала TPC1) (AtTPC1)
Arabidopsis thaliana	Q96262	Катион-связывающий белок 1, ассоциированный с цитоплазматической мембраной (AtPCAP1) (белок 25, дестабилизирующий микротрубочки)
Arabidopsis thaliana	Q9C5Y0	Фосфолипаза D дельта (AtPLDdelta) (дельта PLD) (EC 3.1.4.4)
Arabidopsis thaliana	Q9C7F7	Неспецифический белок-переносчик липидов GPI-заякоренный 1 (AtLTPG-1) (белок LTP-GPI-ЗАЯКОРЕННЫЙ 1)
Arabidopsis thaliana	Q9C821	Богатая пролином рецептор-подобная протеинкиназа PERK15 (EC 2.7.11.1) (богатая пролином экстенсин-подобная рецепторная киназа 15) (AtPERK15)
Arabidopsis thaliana	Q9C8G5	CSC1-подобный белок ERD4 (белок РАННЕГО ОТВЕТА НА СТРЕСС ВСЛЕДСТВИЕ ОБЕЗВОЖИВАНИЯ 4)
Arabidopsis thaliana	Q9C9C5	Рибосомальный белок L6-3 субъединицы 60S
Arabidopsis thaliana	Q9CAR7	Белок 2, индуцированный гиперчувствительностью (AtHIR2)
Arabidopsis thaliana	Q9FFH6	Фасцилин-подобный арабиногалактановый белок 13
Arabidopsis thaliana	Q9FGT8	Индукцированный температурой липокалин-1 (AtTIL1)
Arabidopsis thaliana	Q9FJ62	Глицерофосфодиэфирфосфодиэстераза GDPDL4 (EC 3.1.4.46) (Глицерофосфодиэфирфосфодиэстераза-подобный 4) (ATGDPDL4) (Глицерофосфодиэстераза-подобный 1) (белок SHV3-LIKE 1)
Arabidopsis thaliana	Q9FK68	Ras-связанный белок RABA1c (AtRABA1c)

Arabidopsis thaliana	Q9FKS8	Лизин-гистидиновый переносчик 1
Arabidopsis thaliana	Q9FM65	Фасцилин-подобный арабиногалактановый белок 1
Arabidopsis thaliana	Q9FNH6	NDR1/HIN1-подобный белок 3
Arabidopsis thaliana	Q9FRL3	ERD6-подобный транспортер сахаров 6
Arabidopsis thaliana	Q9FWR4	Глутатион S-трансфераза DHAR1, митохондриальная (EC 2.5.1.18) (гомолог 1 хлоридного внутриклеточного канала) (гомолог CLIC 1) (глутатион-зависимая дегидроаскорбатредуктаза 1) (AtDHAR1) (GSH-зависимая дегидроаскорбатредуктаза 1) (mtDHAR)
Arabidopsis thaliana	Q9FX54	Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа GAPC2, цитозольная (EC 1.2.1.12) (NAD-зависимая глицеральдегидфосфатдегидрогеназа A, субъединица 2)
Arabidopsis thaliana	Q9LE22	Вероятный кальций-связывающий белок CML27 (кальмодулин-подобный белок 27)
Arabidopsis thaliana	Q9LEX1	At3g61050 (белок CaLB) (кальций-зависимый липид-связывающий (домен CaLB) белок)
Arabidopsis thaliana	Q9LF79	Транспортирующая кальций АТФаза 8 цитоплазматической мембраны (EC 3.6.3.8) (Ca(2+)-изоформа 8 АТФазы)
Arabidopsis thaliana	Q9LJG3	GDSL-эстераза/липаза ESM1 (EC 3.1.1.-) (внеклеточная липаза ESM1) (Белок МОДИФИКАТОР 1 ЭПИТИОСПЕЦИФИКАЦИИ) (AtESM1)
Arabidopsis thaliana	Q9LJI5	Субъединица d1 протонной АТФазы V-типа (субъединица V-АТФазы d1) (вакуолярная H(+)-изоформа 1 субъединицы АТФазы d) (субъединица d1 вакуолярной протонной помпы)
Arabidopsis thaliana	Q9LME4	Вероятная протеинфосфатаза 2C 9 (AtPP2C09) (EC 3.1.3.16) (Фитохром-ассоциированная протеинфосфатаза 2C) (PAPP2C)

Arabidopsis thaliana	Q9LNP3	At1g17620/F11A6_23 (F1L3.32) (семейство богатых гидроксипролином гликопротеинов позднего эмбриогенеза (LEA)) (предположительный неохарактеризованный белок At1g17620)
Arabidopsis thaliana	Q9LNW1	Ras-связанный белок RABA2b (AtRABA2b)
Arabidopsis thaliana	Q9LQU2	Белок УСТОЙЧИВОСТИ К КАДМИЮ 1 (AtPCR1)
Arabidopsis thaliana	Q9LQU4	Белок УСТОЙЧИВОСТИ К КАДМИЮ 2 (AtPCR2)
Arabidopsis thaliana	Q9LR30	Глутамат-глиоксилатаминотрансфераза 1 (AtGGT2) (EC 2.6.1.4) (аланинаминотрансфераза GGT1) (EC 2.6.1.2) (аланинглиоксилатаминотрансфераза GGT1) (EC 2.6.1.44) (аланин2-оксоглутаратараза аминотрансфераза 1) EC 2.6.1.-)
Arabidopsis thaliana	Q9LSI9	Инактивированная LRR рецептор-подобная серин/треонин-протеинкиназа VIR2 (Белок РЕЦЕПТОРПОДОБНАЯ КИНАЗА 2, ВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩАЯ С ВАК1)
Arabidopsis thaliana	Q9LSQ5	NAD(P)H дегидрогеназа (хинон) FQR1 (EC 1.6.5.2) (флаводоксин-подобная хинонредуктаза 1)
Arabidopsis thaliana	Q9LUT0	Белок семейства протеинкиназ (предположительный неохарактеризованный белок At3g17410) (Белок, подобный серин/треонин-киназам)
Arabidopsis thaliana	Q9LV48	Богатая пролином рецептор-подобная протеинкиназа PERK1 (EC 2.7.11.1) (Богатая пролином экстенсин-подобная рецепторная киназа 1) (AtPERK1)
Arabidopsis thaliana	Q9LX65	Субъединица H протонной АТФазы V-типа (субъединица H V-АТФазы) (вакуолярная H(+)-субъединица H АТФазы) (субъединица H

		вакуолярной протонной помпы)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q9LYG3	NADP-зависимая малатдегидрогеназа 2 (AtNADP-ME2) (NADP-малатдегидрогеназа 2) (EC 1.1.1.40))
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q9M088	Глюканэндо-1,3-бета-глюкозидаза 5 (EC 3.2.1.39) ((1->3)-бета-глюканэндогидролаза 5) ((1->3)-бета-глюканаза 5) (Бета-1,3 -эндоглюканаза 5) (Бета-1,3-глюканаза 5)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q9M2D8	Неохарактеризованный белок At3g61260
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q9M386	Семейство богатых гидроксипролином гликопротеинов позднего эмбриогенеза (LEA) (Предположительный неохарактеризованный белок At3g54200) (предположительный неохарактеризованный белок F24B22.160)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q9M390	Белок NRT1/ PTR FAMILY 8.1 (AtNPF8.1) (транспортер пептидов PTR1)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q9M5P2	Секреторный носитель-ассоциированный мембранный белок 3 (AtSC3) (секреторный мембранный белок 3)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q9M8T0	Вероятная инактивированная рецепторная киназа At3g02880
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q9SDS7	Субъединица С протонной АТФазы V-типа (субъединица С V-АТФазы) (вакуолярная H(+)-субъединица С АТФазы) (Субъединица С вакуолярной протонной помпы)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q9SEL6	Везикулярный транспорт v-SNARE 11 (AtVTI11) (белок SHOOT GRAVITROPISM 4) (везикулярный растворимый рецептор VTI1a белка прикрепления к NSF) (AtVTI1a) (везикулярный транспорт v-SNARE, белок VTI1a)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q9SF29	Синтаксин-71 (AtSYP71)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Q9SF85	Аденозинкиназа 1 (АК 1) (EC 2.7.1.20) (аденозин-5'-фосфотрансфераза 1)

Arabidopsis thaliana	Q9SIE7	Белок 2, содержащий домен PLAT (AtPLAT2) (белок 2 домена PLAT)
Arabidopsis thaliana	Q9SIM4	Рибосомальный белок L14-1 субъединицы 60S
Arabidopsis thaliana	Q9SIU8	Вероятная протеинфосфатаза 2С 20 (AtPP2C20) (EC 3.1.3.16) (AtPPC3; 1.2)
Arabidopsis thaliana	Q9SJ81	Фасциклин-подобный арабиногалактановый белок 7
Arabidopsis thaliana	Q9SKB2	Серин/треонин/тирозин-протеинкиназа, подобная рецептору с богатыми лейцином повторами, SOBIR1 (EC 2.7.10.1) (EC 2.7.11.1) (Белок EVERSHED) (Белок-СУПРЕССОР VIR1-1)
Arabidopsis thaliana	Q9SKR2	Синаптоагмин-1 (NTMC2T1.1) (Синаптоагмин А)
Arabidopsis thaliana	Q9SLF7	Кислый рибосомальный белок P2-2 субъединицы 60S
Arabidopsis thaliana	Q9SPE6	Альфа-растворимый белок 2 прикрепления к NSF (Alpha-SNAP2) (белок прикрепления альфа 2 к фактору, чувствительному к N-этилмалеимиду)
Arabidopsis thaliana	Q9SRH6	Белок 3, индуцированный гиперчувствительностью (AtHIR3)
Arabidopsis thaliana	Q9SRY5	Глутатион-S-трансфераза F7 (EC 2.5.1.18) (AtGSTF8) (Представитель 7 class-phi GST) (Глутатион-S-трансфераза 11)
Arabidopsis thaliana	Q9SRZ6	Цитозольная изоцитратдегидрогеназа [NADP] (EC 1.1.1.42)
Arabidopsis thaliana	Q9SSK5	MLP-подобный белок 43
Arabidopsis thaliana	Q9SU13	Фасциклин-подобный арабиногалактановый белок 2
Arabidopsis thaliana	Q9SU40	Белок, подобный монокопเปอร์оксидазе, SKU5 (сморщенные корни)
Arabidopsis thaliana	Q9SUR6	Цистинлиаза COR13 (EC 4.4.1.35) (белок 3, индуцируемый КОРОНАТИНОМ) (Белок 2, ВОСПРИИМЧИВЫЙ К ЖАСМОНОВОЙ КИСЛОТЕ) (тирозиламинотрансфераза COR13)

Arabidopsis thaliana	Q9SVC2	Синтаксин-122 (AtSYP122) (Synt4)
Arabidopsis thaliana	Q9SVF0	Предположительный неохарактеризованный белок AT4g38350 (предположительный неохарактеризованный белок F22I13.120)
Arabidopsis thaliana	Q9SW40	Основной белок суперсемейства фасилитаторов (предположительный неохарактеризованный белок AT4g34950) (предположительный неохарактеризованный белок T1I11.190)
Arabidopsis thaliana	Q9SYT0	Аннексин D1 (AnnAt1) (аннексин A1)
Arabidopsis thaliana	Q9SZ11	Глицерофосфодиэфирфосфодиэстераза GDPDL3 (EC 3.1.4.46) (глицерофосфодиэфирфосфодиэстераза-подобная 3) (ATGDPDL3) (глицерофосфодиэстераза-подобная 2) (Белок МУТАНТНОГО КОРНЕВОГО ВОЛОСКА 5) (Белок SHAVEN 3)
Arabidopsis thaliana	Q9SZN1	Субъединица B2 протонной АТФазы V-типа (субъединица V-АТФазы B2) (вакуолярная H(+)-изоформа 2 субъединицы АТФазы B) (субъединица B2 вакуолярной протонной помпы)
Arabidopsis thaliana	Q9SZP6	AT4g38690/F20M13_250 (белок суперсемейства PLC-подобных фосфодиэстераз) (предположительный неохарактеризованный белок AT4g38690) (предположительный неохарактеризованный белок F20M13.250)
Arabidopsis thaliana	Q9SZR1	Транспортирующая кальций АТФаза 10, типа цитоплазматической мембраны (EC 3.6.3.8) (Ca(2+)-изоформа 10 АТФазы)
Arabidopsis thaliana	Q9T053	Фосфолипаза D гамма 1 (AtPLDgamma1) (PLD гамма 1) (EC 3.1.4.4) (холинфосфатаза) (лецитиназа D) (липофосфодиэстераза II)
Arabidopsis thaliana	Q9T076	Ранний нодулин-подобный белок 2 (фитоцианин-подобный белок)
Arabidopsis thaliana	Q9T0A0	Длинноцепочечная ацил-КоА синтетаза 4 (EC 6.2.1.3)

Arabidopsis thaliana	Q9T0G4	Предположительный неохарактеризованный белок AT4g10060 (предположительный нехарактеризованный белок T5L19.190)
Arabidopsis thaliana	Q9XEE2	Аннексин D2 (AnnAt2)
Arabidopsis thaliana	Q9XGM1	Субъединица D протонной АТФазы V-типа (субъединица D V-АТФазы) (вакуолярная H(+)-субъединица D АТФазы) (субъединица D вакуолярной протонной помпы)
Arabidopsis thaliana	Q9XI93	At1g13930/F16A14.27 (F16A14.14) (белок F7A19.2) (олеозин-B3-подобный белок)
Arabidopsis thaliana	Q9XIE2	Представитель 36 семейства ABC-переносчиков G (ABC-переносчик ABCG.36) (AtABCG36) (белок 8 плейотропной резистентности к лекарственным средствам) (белок PENETRATION 3)
Arabidopsis thaliana	Q9ZPZ4	Предположительный неохарактеризованный белок (предположительный неохарактеризованный белок At1g09310) (белок T31J12.3)
Arabidopsis thaliana	Q9ZQX4	Субъединица F протонной АТФазы V-типа (субъединица F V-АТФазы) (субъединица V-АТФазы 14 кДа) (вакуолярная H(+)-субъединица F АТФазы) (субъединица F вакуолярной протонной помпы)
Arabidopsis thaliana	Q9ZSA2	Кальций-зависимая протеинкиназа 21 (EC 2.7.11.1)
Arabidopsis thaliana	Q9ZSD4	Синтаксин-121 (AtSYP121) (белок, родственник синтаксину At-Syr1)
Arabidopsis thaliana	Q9ZV07	Вероятный аквапорин PIP2-6 (внутренний белок 2-6 цитоплазматической мембраны) (AtPIP2; 6) (внутренний белок 2e цитоплазматической мембраны) (PIP2e) [расщепляется на: вероятный аквапорин PIP2-6, процессированный на N-конце]

Arabidopsis thaliana	Q9ZVF3	MLP-подобный белок 328
Arabidopsis thaliana	Q9ZWA8	Фасцилин-подобный арабиногалактановый белок 9
Arabidopsis thaliana	Q9ZSD4	SYR1, белок 1, связанный с синтаксином, также известный как SYP121, PENETRATION1/PEN1 (белок PENETRATION 1)
Citrus lemon	A1ECK0	Предположительный глутаредоксин
Citrus lemon	A9YVC9	Пирофосфат-фруктозо-6-фосфат-1-фосфаттрансфераза, субъединица бета (PFP) (EC 2.7.1.90) (6-фосфофруктокиназа, пирофосфат-зависимая) (P _{Pi} -PFK) (пирофосфат-зависимая 6-фосфофруктозо-1-киназа)
Citrus lemon	B2YGY1	Гликозилтрансфераза (EC 2.4.1.-)
Citrus lemon	B6DZD3	Глутатион S-трансфераза Tau2 (глутатионтрансфераза Tau2)
Citrus lemon	C3VIC2	Фактор элонгации трансляции
Citrus lemon	C8CPS0	Импортин, субъединица альфа
Citrus lemon	D3JWB5	флаванон-3-гидроксилаза
Citrus lemon	E0ADY2	Предположительная O-метилтрансфераза кофейной кислоты
Citrus lemon	E5DK62	АТФ-синтаза, субъединица альфа (фрагмент)
Citrus lemon	E9M5S3	Предположительная L-галактозо-1-фосфатфосфатаза
Citrus lemon	F1CGQ9	Белок теплового шока 90
Citrus lemon	F8WL79	Аминопептидаза (EC 3.4.11.-)
Citrus lemon	F8WL86	Белок теплового шока
Citrus lemon	K9JG59	Белок, связанный со стрессовым созреванием абсцизовой кислоты
Citrus lemon	Q000W4	Fe (III)-хелатредуктаза
Citrus lemon	Q39538	Белок теплового шока (фрагмент)
Citrus lemon	Q5UEN6	Предположительный белок сигнальной распознающей частицы
Citrus lemon	Q8GV08	Дегидрин
Citrus lemon	Q8L893	Цитозольная фосфоглюкомутаза (фрагмент)

Citrus lemon	Q8S990	Белок, ингибирующий полигалактуроназу
Citrus lemon	Q8W3U6	Белок-ингибитор полигалактуроназы
Citrus lemon	Q93XL8	Дегидрин COR15
Citrus lemon	Q941Q1	Несимбиотический гемоглобин класса 1
Citrus lemon	Q9MBF3	РНК-связывающий белок, богатый глицином
Citrus lemon	Q9SP55	Субъединица G протонной АТФазы V-типа (субъединица G V-АТФазы) (субъединица G вакуолярной протонной помпы)
Citrus lemon	Q9THJ8	Большая цепь рибулозобисфосфаткарбоксилазы (EC 4.1.1.39) (фрагмент)
Citrus lemon	Q9ZST2	Пирофосфат-фруктозо-6-фосфат-1-фосфаттрансфераза, субъединица альфа (PFP) (6-фосфофруктокиназа, пирофосфат-зависимая) (PPi-PFK) (пирофосфат-зависимая 6-фосфофруктозо-1-киназа)
Citrus lemon	Q9ZWH6	Ингибитор полигалактуроназы
Citrus lemon	S5DXI9	Нуклеокапсидный белок
Citrus lemon	S5NFC6	GTP-циклогидролаза
Citrus lemon	V4RG42	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4RGP4	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4RHN8	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4RJ07	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4RJK9	Аденозилгомоцистеиназа (EC 3.3.1.1)
Citrus lemon	V4RJM1	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4RJX1	Рибосомальный белок S6 субъединицы 40S
Citrus lemon	V4RLB2	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4RMX8	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4RNA5	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4RP81	Гликозилтрансфераза (EC 2.4.1.-)
Citrus lemon	V4RPZ5	Белок, ассоциированный с аденилатциклазой
Citrus lemon	V4RTN9	Гистон H4
Citrus lemon	V4RUZ4	Фосфосеринаминотрансфераза (EC 2.6.1.52)
Citrus lemon	V4RVF6	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4RXD4	Неохарактеризованный белок

Citrus lemon	V4RXG2	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4RYA0	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4RYE3	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4RYH3	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4RYX8	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4RZ12	Субъединица бета' коатомера
Citrus lemon	V4RZ89	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4RZE3	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4RZF3	1,2-дигидрокси-3-кето-5-метилтиопентендиоксигеназа (EC 1.13.11.54) (ациредуктон-диоксигеназа (Fe(2+)-зависимая)) (ARD) (Fe-ARD)
Citrus lemon	V4RZM7	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4RZX6	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4S1V0	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4S2B6	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4S2N1	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4S2S5	Неохарактеризованный белок (фрагмент)
Citrus lemon	V4S346	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4S3T8	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4S409	Цианатгидратаза (Цианаз) (EC 4.2.1.104) (Цианатгидролаза) (Цианатлиаза)
Citrus lemon	V4S4E4	Гистон H2B
Citrus lemon	V4S4F6	Флавинсодержащая монооксигеназа (EC 1.-.-.-)
Citrus lemon	V4S4J1	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4S4K9	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4S535	Субъединица протеасомы альфа-типа (EC 3.4.25.1)
Citrus lemon	V4S5A8	Изоцитратдегидрогеназа [NADP] (EC 1.1.1.42)
Citrus lemon	V4S5G8	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4S5I6	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4S5N4	Неохарактеризованный белок (фрагмент)
Citrus lemon	V4S5Q3	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4S5X8	Неохарактеризованный белок

Citrus lemon	V4S5Y1	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4S6P4	Кальций-транспортирующая АТФаза (EC 3.6.3.8)
Citrus lemon	V4S6W0	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4S6W7	Неохарактеризованный белок (фрагмент)
Citrus lemon	V4S6Y4	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4S773	Рибосомальный белок L19
Citrus lemon	V4S7U0	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4S7U5	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4S7W4	Пируваткиназа (EC 2.7.1.40)
Citrus lemon	V4S885	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4S8T3	Пептидилпролил-цис-транс-изомераза (PPIase) (EC 5.2.1.8)
Citrus lemon	V4S920	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4S999	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4S9G5	Фосфоглицераткиназа (EC 2.7.2.3)
Citrus lemon	V4S9Q6	Бета-амилаза (EC 3.2.1.2)
Citrus lemon	V4SA44	Серин/треонин-протеинфосфатаза (EC 3.1.3.16)
Citrus lemon	V4SAE0	Альфа-1,4-глюканфосфорилаза (EC 2.4.1.1)
Citrus lemon	V4SAF6	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SAI9	Субъединица М фактора инициации трансляции 3 эукариот (eIF3m)
Citrus lemon	V4SAJ5	Рибосомальный белок
Citrus lemon	V4SAR3	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SB37	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SBI0	Фактор элонгации 1-альфа
Citrus lemon	V4SBI8	D-3-фосфоглицератдегидрогеназа (EC 1.1.1.95)
Citrus lemon	V4SBL9	Полиаденилат-связывающий белок (PABP)
Citrus lemon	V4SBR1	S-формилглутатионгидролаза (EC 3.1.2.12)
Citrus lemon	V4SBR6	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SCG7	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SCJ2	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SCQ6	Пептидилпролил-цис-транс-изомераза (PPIase) (EC 5.2.1.8)
Citrus lemon	V4SDJ8	Неохарактеризованный белок

Citrus lemon	V4SE41	Белок DETOXIFICATION (белок экстрезии множественных лекарственных средств и токсичных соединений)
Citrus lemon	V4SE90	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SED1	Субъединица флавопротеина сукцинатдегидрогеназы [убихинон], митохондриальная (EC 1.3.5.1)
Citrus lemon	V4SEI1	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SEN9	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SEX8	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SF31	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SF69	Рибосомальный белок S24 субъединицы 40S
Citrus lemon	V4SF76	Цистеинсинтаза (EC 2.5.1.47)
Citrus lemon	V4SFK3	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SFL4	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SFW2	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SGC9	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SGJ4	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SGN4	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SGV6	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SGV7	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SHH1	АТФаза цитоплазматической мембраны (EC 3.6.3.6) (фрагмент)
Citrus lemon	V4SHI2	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SHJ3	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SI86	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SI88	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SIA2	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SIC1	Фосфолипаза D (EC 3.1.4.4)
Citrus lemon	V4SJ14	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SJ48	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SJ69	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SJD9	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SJS7	Неохарактеризованный белок

Citrus lemon	V4SJT5	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SKA2	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SKG4	Глюкозо-6-фосфатизомераза (EC 5.3.1.9)
Citrus lemon	V4SKJ1	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SL90	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SLC6	Субъединица протеасомы бета-типа (EC 3.4.25.1)
Citrus lemon	V4SLI7	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SLQ6	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SMD8	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SMN7	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SMV5	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SN00	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SNA9	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SNC1	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SNC4	Аконитатгидратаза (Аконитаза) (EC 4.2.1.3)
Citrus lemon	V4SNZ3	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SP86	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SPM1	Рибосомальный белок S12 субъединицы 40S
Citrus lemon	V4SPW4	Рибосомальный белок S4 субъединицы 40S
Citrus lemon	V4SQ71	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SQ89	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SQ92	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SQC7	Пероксидаза (EC 1.11.1.7)
Citrus lemon	V4SQG3	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SR15	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SRN3	Трансмембранный представитель суперсемейства 9
Citrus lemon	V4SS09	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SS11	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SS50	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SSB6	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SSB8	Субъединица протеасомы альфа-типа (EC 3.4.25.1)
Citrus lemon	V4SSL7	Неохарактеризованный белок

Citrus lemon	V4SSQ1	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SST6	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SSW9	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SSX5	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SU82	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SUD3	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SUL7	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SUP3	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SUT4	UDP-глюкозо-6-дегидрогеназа (EC 1.1.1.22)
Citrus lemon	V4SUY5	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SV60	Серин/треонин-протеинфосфатаза (EC 3.1.3.16)
Citrus lemon	V4SV61	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SVI5	Субъединица протеасомы альфа-типа (EC 3.4.25.1)
Citrus lemon	V4SVI6	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SW04	Неохарактеризованный белок (фрагмент)
Citrus lemon	V4SWD9	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SWJ0	Рибосомальный белок S3a субъединицы 40S
Citrus lemon	V4SWQ9	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SWR9	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SWU9	Фруктозобисфосфатальдолаза (EC 4.1.2.13)
Citrus lemon	V4SX11	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SX99	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SXC7	Субъединица протеасомы альфа-типа (EC 3.4.25.1)
Citrus lemon	V4SXQ5	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SXW1	Бета-адаптин-подобный белок
Citrus lemon	V4SXY9	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SY74	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SY90	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SY93	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SYH9	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SYK6	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SZ03	Неохарактеризованный белок

Citrus lemon	V4SZ73	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SZI9	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4SZX7	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4T057	Рибосомальный белок L15
Citrus lemon	V4T0V5	Эукариотический фактор инициации трансляции 3, субъединица А (eIF3a) (эукариотический фактор инициации трансляции 3, субъединица 10)
Citrus lemon	V4T0Y1	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4T1Q6	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4T1U7	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4T2D9	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4T2M6	Бета-цепь тубулина
Citrus lemon	V4T3G2	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4T3P3	6-фосфоглюконатдегидрогеназа, декарбоксилирующая (EC 1.1.1.44)
Citrus lemon	V4T3V9	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4T3Y6	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4T4H3	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4T4I7	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4T4M7	Супероксиддисмутаза [Cu-Zn] (EC 1.15.1.1)
Citrus lemon	V4T539	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4T541	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4T576	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4T5E1	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4T5I3	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4T5W7	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4T6T5	Кислый рибосомальный белок P0 субъединицы 60S
Citrus lemon	V4T722	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4T785	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4T7E2	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4T7I7	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4T7N0	Субъединица протеасомы бета-типа (EC 3.4.25.1)

Citrus lemon	V4T7N4	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4T7T2	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4T7W5	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4T825	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4T846	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4T8E9	S-ацилтрансфераза (EC 2.3.1.225) (пальмитойлтрансфераза)
Citrus lemon	V4T8G2	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4T8G9	Хоризматсинтаза (EC 4.2.3.5)
Citrus lemon	V4T8Y6	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4T8Y8	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4T939	Карбоксипептидаза (EC 3.4.16.-)
Citrus lemon	V4T957	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4T998	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4T9B9	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4T9Y7	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TA70	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TAF6	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TB09	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TB32	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TB89	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TBN7	Фосфоинозитидфосфолипаза C (EC 3.1.4.11)
Citrus lemon	V4TBQ3	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TBS4	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TBU3	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TCA6	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TCL3	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TCS5	Пектатлиаза (EC 4.2.2.2)
Citrus lemon	V4TD99	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TDB5	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TDI2	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TDY3	Серин/треонин-протеинкиназа (EC 2.7.11.1)
Citrus lemon	V4TE72	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TE95	Неохарактеризованный белок

Citrus lemon	V4TEC0	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TED8	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TES4	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TEY9	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TF24	Субъединица протеасомы альфа-типа (EC 3.4.25.1)
Citrus lemon	V4TF52	Уриказа (EC 1.7.3.3) (уратоксидаза)
Citrus lemon	V4TFV8	Каталаза (EC 1.11.1.6)
Citrus lemon	V4TGU1	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TH28	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TH78	Ретикулон-подобный белок
Citrus lemon	V4THM9	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TIU2	Рибулозо-фосфат-3-эпимераза (EC 5.1.3.1)
Citrus lemon	V4TIW6	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TIY6	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TIZ5	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TJ75	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TJC3	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TJQ9	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TK29	NEDD8-активирующий фермент E1, регуляторная субъединица
Citrus lemon	V4TL04	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TLL5	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TLP6	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TM00	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TM19	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TMB7	Неохарактеризованный белок (фрагмент)
Citrus lemon	V4TMD1	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TMD6	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TMV4	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TN30	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TN38	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TNY8	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TP87	Карбоангидраза (EC 4.2.1.1)

		(карбонатдегидратаза)
Citrus lemon	V4TPM1	Гомосериндегидрогеназа (HDH) (EC 1.1.1.3)
Citrus lemon	V4TQB6	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TQM7	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TQR2	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TQV9	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TS21	Субъединица протеасомы бета-типа (EC 3.4.25.1)
Citrus lemon	V4TS28	Аннексин
Citrus lemon	V4TSD8	Неохарактеризованный белок (фрагмент)
Citrus lemon	V4TSF8	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TSI9	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TT89	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TTA0	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TTR8	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TTV4	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TTZ7	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TU54	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TVB6	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TVG1	Фактор инициации трансляции эукариот 5A (eIF-5A)
Citrus lemon	V4TVJ4	Профилин
Citrus lemon	V4TVM6	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TVM9	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TVP7	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TVT8	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TW14	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TWG9	Белок 1 Т-комплекса, субъединица дельта
Citrus lemon	V4TWU1	Вероятная бифункциональная метилтиорибулозо-1-фосфатдегидратаза/енолаза-фосфатаза E1 [включает: енолазу-фосфатазу E1 (EC 3.1.3.77) (2,3-дикето-5-метилтио-1-фосфопентанфосфатазу); метилтиорибулозо-1-фосфатдегидратазу (MTRu-1-P дегидратазу) (EC 4.2.1.109)]

Citrus lemon	V4TWX8	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TXH0	Глутаматдекарбоксилаза (EC 4.1.1.15)
Citrus lemon	V4TXK9	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TXU9	Тиаминтиазолсинтаза, хлоропластная (фермент биосинтеза тиазола)
Citrus lemon	V4TY40	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TYJ6	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TYP5	Рибосомальный белок L13 субъединицы 60S
Citrus lemon	V4TYP6	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TYR6	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TYZ8	Альфа-цепь тубулина
Citrus lemon	V4TZ91	Ингибитор диссоциации гуанозинуклеотиддифосфата
Citrus lemon	V4TZA8	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TZJ1	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TZK5	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TZP2	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TZT8	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4TZU3	Митоген-активируемая протеинкиназа (EC 2.7.11.24)
Citrus lemon	V4TZU5	Дигидролипоилдегидрогеназа (EC 1.8.1.4)
Citrus lemon	V4TZZ0	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4U003	Субъединица К фактора инициации трансляции 3 эукариот (eIF3k) (eIF-3 p25)
Citrus lemon	V4U068	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4U088	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4U0J7	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4U133	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4U1A8	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4U1K1	Ксилозиизомераза (EC 5.3.1.5)
Citrus lemon	V4U1M1	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4U1V0	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4U1X7	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4U1X9	Субъединица протеасомы бета-типа (EC 3.4.25.1)

Citrus lemon	V4U251	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4U283	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4U2E4	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4U2F7	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4U2H8	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4U2L0	Малатдегидрогеназа (EC 1.1.1.37)
Citrus lemon	V4U2L2	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4U2W4	Субъединица С протонной АТФазы V-типа
Citrus lemon	V4U3L2	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4U3W8	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4U412	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4U4K2	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4U4M4	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4U4N5	Фактор инициации трансляции эукариот 6 (eIF-6)
Citrus lemon	V4U4S9	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4U4X3	Серингидроксиметилтрансфераза (EC 2.1.2.1)
Citrus lemon	V4U4Z9	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4U500	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4U5B0	Эукариотический фактор инициации трансляции 3, субъединица E (eIF3e) (эукариотический фактор инициации трансляции 3, субъединица 6)
Citrus lemon	V4U5B8	Глутатионпероксидаза
Citrus lemon	V4U5R5	Цитратсинтаза
Citrus lemon	V4U5Y8	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4U6I5	Субъединица бета АТФ-синтазы (EC 3.6.3.14)
Citrus lemon	V4U6Q8	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4U706	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4U717	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4U726	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4U729	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4U734	Серин/треонин-протеинфосфатаза (EC 3.1.3.16)
Citrus lemon	V4U7G7	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4U7H5	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4U7R1	Транспортер калия

Citrus lemon	V4U7R7	Митоген-активируемая протеинкиназа (EC 2.7.11.24)
Citrus lemon	V4U833	Малатдегидрогеназа
Citrus lemon	V4U840	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4U8C3	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4U8J1	3-фосфошикимат-1-карбоксивинилтрансфераза (EC 2.5.1.19)
Citrus lemon	V4U8J8	Белок 1 Т-комплекса, субъединица гамма
Citrus lemon	V4U995	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4U999	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4U9C7	Эукариотический фактор инициации трансляции 3, субъединица D (eIF3d) (эукариотический фактор инициации трансляции 3, субъединица 7) (eIF-3-зета)
Citrus lemon	V4U9G8	Пролиниминопептидаза (EC 3.4.11.5)
Citrus lemon	V4U9L1	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UA63	Фитохром
Citrus lemon	V4UAC8	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UAR4	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UB30	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UBK8	Субъединица а протонной АТФазы V-типа
Citrus lemon	V4UBL3	Субъединица альфа коатомера
Citrus lemon	V4UBL5	Неохарактеризованный белок (фрагмент)
Citrus lemon	V4UBM0	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UBZ8	Аспаратаминотрансфераза (EC 2.6.1.1)
Citrus lemon	V4UC72	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UC97	Бета-глюкозидаза (EC 3.2.1.21)
Citrus lemon	V4UCE2	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UCT9	Ацетил-коэнзим-А-синтаза (EC 6.2.1.1)
Citrus lemon	V4UCZ1	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UE34	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UE78	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UER3	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UET6	Неохарактеризованный белок

Citrus lemon	V4UEZ6	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UFD0	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UFG8	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UFK1	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UG68	Субъединица I фактора инициации трансляции 3 эукариот (eIF3i)
Citrus lemon	V4UGB0	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UGH4	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UGL9	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UGQ0	Убиквитинилгидролаза 1 (EC 3.4.19.12)
Citrus lemon	V4UH00	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UH48	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UH77	Субъединица протеасомы альфа-типа (EC 3.4.25.1)
Citrus lemon	V4UHD8	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UHD9	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UHF1	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UHZ5	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UI07	Рибосомальный белок S8 субъединицы 40S
Citrus lemon	V4UI34	Субъединица L фактора инициации трансляции 3 эукариот (eIF3l)
Citrus lemon	V4UIF1	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UIN5	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UIX8	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UJ12	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UJ42	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UJ63	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UJB7	Неохарактеризованный белок (фрагмент)
Citrus lemon	V4UJC4	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UJX0	Фосфотрансфераза (EC 2.7.1.-)
Citrus lemon	V4UJY5	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UK18	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UK52	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UKM9	Неохарактеризованный белок

Citrus lemon	V4UKS4	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UKV6	Рибосомальный белок SA субъединицы 40S
Citrus lemon	V4UL30	Пирофосфат-фруктозо-6-фосфат-1-фосфаттрансфераза, субъединица бета (PFP) (EC 2.7.1.90) (6-фосфофруктокиназа, пирофосфат-зависимая) (PPI-PFK) (пирофосфат-зависимая 6-фосфофруктозо-1-киназа)
Citrus lemon	V4UL39	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4ULH9	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4ULL2	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4ULS0	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UMU7	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UN36	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UNT5	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UNW1	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UP89	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UPE4	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UPF7	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UPK0	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UPX5	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UQ58	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UQF6	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UR21	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UR80	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4URK3	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4URT3	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4US96	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4USQ8	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UT16	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UTC6	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UTC8	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UTP6	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UTY0	Субъединица протеасомы альфа-типа (EC 3.4.25.1)

Citrus lemon	V4UU96	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UUB6	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UUJ9	Аминопептидаза (EC 3.4.11.-)
Citrus lemon	V4UUK6	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UV09	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UV83	Лизин-тРНК-лигаза (EC 6.1.1.6) (лизил-тРНК-синтетаза)
Citrus lemon	V4UVJ5	Диацилглицеринкиназа (DAG киназа) (EC 2.7.1.107)
Citrus lemon	V4UW03	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UW04	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UWR1	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UWV8	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4UX36	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4V003	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4V0J0	Рибосомальный белок S26 субъединицы 40S
Citrus lemon	V4V1P8	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4V4V0	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4V5T8	Модификатор 1 с укладкой убиквитина
Citrus lemon	V4V600	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4V622	Альдегиддегидрогеназа
Citrus lemon	V4V6W1	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4V6Z2	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4V738	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4V8H5	Белок 35, связанный с вакуолярной сортировкой белков
Citrus lemon	V4V9P6	Субъединица F фактора инициации трансляции 3 эукариот (eIF3f) (eIF-3-эпсилон)
Citrus lemon	V4V9V7	Тяжелая цепь клатрина
Citrus lemon	V4V9X3	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4VAA3	Супероксиддисмутаза (EC 1.15.1.1)
Citrus lemon	V4VAF3	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4VBQ0	Неохарактеризованный белок (фрагмент)
Citrus lemon	V4VCL1	Субъединица протеасомы бета-типа (EC 3.4.25.1)

Citrus lemon	V4VCZ9	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4VDK1	Пептидилпропилизомераза (EC 5.2.1.8)
Citrus lemon	V4VEA1	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4VEB3	Аланин-тРНК-лигаза (EC 6.1.1.7) (аланил-тРНК-синтетаза) (AlaRS)
Citrus lemon	V4VEE3	Глутаминсинтетаза (EC 6.3.1.2)
Citrus lemon	V4VFM3	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4VFN5	Субъединица протеасомы бета-типа (EC 3.4.25.1)
Citrus lemon	V4VGD6	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4VGL9	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4VHI6	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4VIP4	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4VJT4	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4VK14	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4VKI5	Протеин-L-изоаспартат-O-метилтрансфераза (EC 2.1.1.77)
Citrus lemon	V4VKP2	Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа (EC 1.2.1.-)
Citrus lemon	V4VL73	Ацил-коэнзим-A-оксидаза
Citrus lemon	V4VLL7	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4VN43	Неохарактеризованный белок (фрагмент)
Citrus lemon	V4VQH3	Метилентетрагидрофолатредуктаза (EC 1.5.1.20)
Citrus lemon	V4VTC9	Неохарактеризованный белок (фрагмент)
Citrus lemon	V4VTT4	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4VTY7	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4VU14	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4VU32	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4VUK6	S-(гидроксиметил)глутатиондегидрогеназа (EC 1.1.1.284)
Citrus lemon	V4VVR8	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4VXE2	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4VY37	Фосфоманномутаза (EC 5.4.2.8)
Citrus lemon	V4VYC0	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4VYV1	Неохарактеризованный белок

Citrus lemon	V4VZ80	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4VZJ7	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4W2P2	Альфа-маннозидаза (EC 3.2.1.-)
Citrus lemon	V4W2Z9	Белок хлоридного канала
Citrus lemon	V4W378	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4W4G3	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4W5F1	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4W5N8	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4W5U2	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4W6G1	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4W730	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4W7J4	Obg-подобная АТФаза 1
Citrus lemon	V4W7L5	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4W8C5	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4W8C9	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4W8D3	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4W951	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4W9F6	Рибосомальный белок L18a субъединицы 60S
Citrus lemon	V4W9G2	Неохарактеризованный белок (фрагмент)
Citrus lemon	V4W9L3	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4W9Y8	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4WAP9	Бета-субъединица коатомера (белок бета-оболочки)
Citrus lemon	V4WBK6	Субъединица 7 комплекса цитохрома b-c1
Citrus lemon	V4WC15	Малатдегидрогеназа
Citrus lemon	V4WC19	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4WC74	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4WC86	Регуляторная субъединица В серин/треонин-протеинфосфатазы 2А с молекулярным весом, составляющим 55 кДа
Citrus lemon	V4WCS4	GTP-связывающий ядерный белок
Citrus lemon	V4WD80	Аспаратаминотрансфераза (EC 2.6.1.1)
Citrus lemon	V4WDK0	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4WDK3	АТФ-зависимая 6-фосфофруктокиназа (АТФ-

		PFK) (фосфофруктокиназа) (EC 2.7.1.11) (фосфогексокиназа)
Citrus lemon	V4WE00	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4WEE3	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4WEN2	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4WG97	Белок, связанный с аутофагией
Citrus lemon	V4WGV2	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4WGW5	Уридинкиназа (EC 2.7.1.48)
Citrus lemon	V4WHD4	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4WHF8	Сахарозосинтаза (EC 2.4.1.13)
Citrus lemon	V4WHK2	Пектинэстераза (EC 3.1.1.11)
Citrus lemon	V4WHQ4	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4WHT6	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4WJ93	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4WJA9	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V4WJB1	Неохарактеризованный белок
Citrus lemon	V9HXG3	Протеиндисульфидизомераза (EC 5.3.4.1)
Citrus lemon	W8Q8K1	Предположительная пирофосфатаза неорганического фосфата
Citrus lemon	W8QJL0	Предположительная изопентенилпирофосфатизомераза
<i>Виноград</i>	Номер доступа	Идентифицированные белки
<i>Виноград</i>	A5C5K3 (+2)	Аденозилгомоцистеиназа
<i>Виноград</i>	Q9M6B5	Алкогольдегидрогеназа б
<i>Виноград</i>	A3FA65 (+1)	Аквапорин PIP1; 3
<i>Виноград</i>	Q0MX13 (+2)	Аквапорин PIP2; 2
<i>Виноград</i>	A3FA69 (+4)	Аквапорин PIP2; 4
<i>Виноград</i>	A5AFS1 (+2)	Фактор элонгации 1-альфа
<i>Виноград</i>	UPI00019857 02	Фактор элонгации 2
<i>Виноград</i>	D7T227	Енолаза
<i>Виноград</i>	D7TJ12	Енолаза
<i>Виноград</i>	A5B118 (+1)	Фруктозо-бисфосфатальдолаза

<i>Виноград</i>	E0CQ39	Глюкозо-6-фосфатизомераза
<i>Виноград</i>	D7TW04	Глутатионпероксидаза
<i>Виноград</i>	A1YW90 (+3)	Глутатион-S-трансфераза
<i>Виноград</i>	A5BEW0	Гистон H4
<i>Виноград</i>	UPI00015C9 A6A	HSC70-1 (когнатный белок теплового шока, 70 кДа, белок 1); АТФ-связывающая изоформа 1
<i>Виноград</i>	D7FBC0 (+1)	Малатдегидрогеназа
<i>Виноград</i>	D7TBH4	Малатдегидрогеназа
<i>Виноград</i>	A5ATB7 (+1)	Метилентетрагидрофолатредуктаза
<i>Виноград</i>	A5JPK7 (+1)	Монодегидроаскорбатредуктаза
<i>Виноград</i>	A5AKD8	Пептидилпролил-цис-транс-изомераза
<i>Виноград</i>	A5BQN6	Пептидилпролил-цис-транс-изомераза
<i>Виноград</i>	A5CAF6	Фосфоглицераткиназа
<i>Виноград</i>	Q09VU3 (+1)	Фосфолипаза D
<i>Виноград</i>	D7SK33	Фосфорилаза
<i>Виноград</i>	A5AQ89	Профилин
<i>Виноград</i>	C5DB50 (+2)	Предположительная 2,3-бисфосфоглицерат-независимая фосфоглицератмутаза
<i>Виноград</i>	D7TIZ5	Пируваткиназа
<i>Виноград</i>	A5BV65	Триозофосфатизомераза
<i>Грейпфрут</i>	G8Z362 (+1)	(E)-бета-фарнезенсинтаза
<i>Грейпфрут</i>	Q5CD81	(E)-бета-оцименсинтаза
<i>Грейпфрут</i>	D0UZK1 (+2)	1,2-рамнозилтрансфераза
<i>Грейпфрут</i>	A7ISD3	1,6-рамнозилтрансфераза
<i>Грейпфрут</i>	Q80H98	Белок с молекулярным весом 280 кДа
<i>Грейпфрут</i>	Q15GA4 (+2)	Полипротеин с молекулярным весом 286 кДа
<i>Грейпфрут</i>	D7NHW9	2-фосфо-D-глицератгидролаза
<i>Грейпфрут</i>	D0EAL9	Полипротеин с молекулярным весом 349 кДа
<i>Грейпфрут</i>	Q9DTG5	Полипротеин с молекулярным весом 349 кДа
<i>Грейпфрут</i>	O22297	Кислая целлюлаза
<i>Грейпфрут</i>	Q8H986	Кислая хитиназа класса I
<i>Грейпфрут</i>	D3GQL0	Аконитатгидролаза 1
<i>Грейпфрут</i>	K7N8A0	Актин
<i>Грейпфрут</i>	A8W8Y0	Алкогольацилтрансфераза

<i>Грейпфрут</i>	Q84V85	Алленоксидсинтаза
<i>Грейпфрут</i>	F8WL79	Аминопептидаза
<i>Грейпфрут</i>	Q09MG5	Апоцитохром f
<i>Грейпфрут</i>	J7EIR8	Аскорбатпероксидаза
<i>Грейпфрут</i>	B9VRH6	Аскорбатпероксидаза
<i>Грейпфрут</i>	G9I820	Фактор ответа на ауксин
<i>Грейпфрут</i>	J7ICW8	Бета-амилиза
<i>Грейпфрут</i>	Q8L5Q9	Бета-галактозидаза
<i>Грейпфрут</i>	A7BG60	Бета-пиненсинтаза
<i>Грейпфрут</i>	C0KLD1	Бета-тубулин
<i>Грейпфрут</i>	Q91QZ1	Капсидный белок
<i>Грейпфрут</i>	Q3SAK9	Капсидный белок
<i>Грейпфрут</i>	D2U833	Катионный котранспортер хлорида
<i>Грейпфрут</i>	C3VPJ0 (+3)	Халконсинтаза
<i>Грейпфрут</i>	D5LM39	Белок хлоридного канала
<i>Грейпфрут</i>	Q9M4U0	Циннамат-4-гидроксилаза CYP73
<i>Грейпфрут</i>	Q39627	Цитрин
<i>Грейпфрут</i>	G2XKD3	Белок оболочки
<i>Грейпфрут</i>	Q3L2I6	Белок оболочки
<i>Грейпфрут</i>	D5FV16	CRT/DRE-связывающий фактор
<i>Грейпфрут</i>	Q8H6S5	CTV.2
<i>Грейпфрут</i>	Q8H6Q8	CTV.20
<i>Грейпфрут</i>	Q8H6Q7	CTV.22
<i>Грейпфрут</i>	Q1I1D7	Цитохром P450
<i>Грейпфрут</i>	Q7Y045	Дегидрин
<i>Грейпфрут</i>	F8WLD2	Белок эксцизионной репарации ДНК
<i>Грейпфрут</i>	Q09MI8	Субъединица бета"-ДНК-зависимой РНК-полимеразы
<i>Грейпфрут</i>	D2WKC9	Белок ответа на этилен 1
<i>Грейпфрут</i>	D2WKD2	Сенсор ответа на этилен 1
<i>Грейпфрут</i>	D7PVG7	Нечувствительный к этилену 3-подобный белок 1
<i>Грейпфрут</i>	G3CHK8	Субъединица E фактора инициации трансляции 3 эукариот
<i>Грейпфрут</i>	A9NIG4 (+3)	Гидропероксидаза жирных кислот

<i>Грейпфрут</i>	B8Y9B5	Белок семейства F-box
<i>Грейпфрут</i>	Q000W4	Fe (III)-хелатредуктаза
<i>Грейпфрут</i>	Q6Q3H4	Фруктокиназа
<i>Грейпфрут</i>	F8WL95	Gag-pol-полипротеин
<i>Грейпфрут</i>	Q8L5K4	Гамма-терпиненсинтаза, хлоропластная
<i>Грейпфрут</i>	Q9SP43	Глюкозо-1-фосфатаденилилтрансфераза
<i>Грейпфрут</i>	Q3HM93	Глутатион-S-трансфераза
<i>Грейпфрут</i>	D0VEW6	Фактор транскрипции семейства GRAS
<i>Грейпфрут</i>	F8WL87	Белок теплового шока
<i>Грейпфрут</i>	H9NHK0	Hsp90
<i>Грейпфрут</i>	Q8H6R4	Jp18
<i>Грейпфрут</i>	G3CHK6	Белок семейства с лейцин-богатыми повторами
<i>Грейпфрут</i>	B2YGX9 (+1)	Лимоноид-UDP-глюкозилтрансфераза
<i>Грейпфрут</i>	Q05KK0	Белок MADS-box
<i>Грейпфрут</i>	F8WLB4	Белок, содержащий домен механочувствительного ионного канала
<i>Грейпфрут</i>	Q5CD82	Монотерпенсинтаза
<i>Грейпфрут</i>	F8WLC4	Фактор транскрипции MYB
<i>Грейпфрут</i>	A5YWA9	Белок домена NAC
<i>Грейпфрут</i>	Q09MC9	NAD(P)H-хиноноксидоредуктаза, субъединица 5, хлоропластная
<i>Грейпфрут</i>	Q8H6R9	Белок устойчивости к заболеваниям типа NBS-LRR
<i>Грейпфрут</i>	Q8H6S0	Белок устойчивости к заболеваниям типа NBS-LRR
<i>Грейпфрут</i>	Q8H6R6	Белок устойчивости к заболеваниям типа NBS-LRR
<i>Грейпфрут</i>	J9WR93	p1a
<i>Грейпфрут</i>	Q1X8V8	P23
<i>Грейпфрут</i>	E7DSS0 (+4)	P23
<i>Грейпфрут</i>	G0Z9I6	p27
<i>Грейпфрут</i>	I3XHN0	p33
<i>Грейпфрут</i>	B8YDL3	Белок p33
<i>Грейпфрут</i>	B9VB22	Белок p33

<i>Грейпфрут</i>	P87587	P346
<i>Грейпфрут</i>	B9VB56	Белок p349
<i>Грейпфрут</i>	I3RWW7	Белок p349
<i>Грейпфрут</i>	B9VB20	Белок p349
<i>Грейпфрут</i>	Q9WID7	Белок p349
<i>Грейпфрут</i>	Q2XP16	P353
<i>Грейпфрут</i>	O04886 (+1)	Пектинэстераза 1
<i>Грейпфрут</i>	F8WL74	Пептидилпролил-цис-транс-изомераза
<i>Грейпфрут</i>	Q0ZA67	Пероксидаза
<i>Грейпфрут</i>	F1CT41	Фосфоенолпируваткарбоксилаза
<i>Грейпфрут</i>	B1PBV7 (+2)	Фитоенсинтаза
<i>Грейпфрут</i>	Q9ZWQ8	Пластид-липид-ассоциированный белок, хлоропластный
<i>Грейпфрут</i>	Q94FM1	Полипротеин Pol
<i>Грейпфрут</i>	Q94FM0	Полипротеин Pol
<i>Грейпфрут</i>	G9I825	Поли-С-связывающий белок
<i>Грейпфрут</i>	O64460 (+7)	Ингибитор полигалактуроназы
<i>Грейпфрут</i>	I3XHM8	Полипротеин
<i>Грейпфрут</i>	C0STR9	Полипротеин
<i>Грейпфрут</i>	H6U1F0	Полипротеин
<i>Грейпфрут</i>	B8QHP8	Полипротеин
<i>Грейпфрут</i>	I3V6C0	Полипротеин
<i>Грейпфрут</i>	C0STS0	Полипротеин
<i>Грейпфрут</i>	K0FGH5	Полипротеин
<i>Грейпфрут</i>	Q3HWZ1	Полипротеин
<i>Грейпфрут</i>	F8WLA5	PPR-содержащий белок
<i>Грейпфрут</i>	Q06652 (+1)	Вероятный фосфолипидгидропероксидглутатион Пероксидаза
<i>Грейпфрут</i>	P84177	Профилин
<i>Грейпфрут</i>	Q09MB4	Белок usc2
<i>Грейпфрут</i>	A8C183	Субъединица II реакционного центра PSI
<i>Грейпфрут</i>	A5JVP6	Предположительный белок 2b
<i>Грейпфрут</i>	D0EFM2	Предположительный фактор инициации трансляции эукариот 1

<i>Грейпфрут</i>	Q18L98	Предположительный полипротеин gag-pol
<i>Грейпфрут</i>	B5AMI9	Предположительный двигательный белок
<i>Грейпфрут</i>	A1ECK5	Предположительный белок восприимчивости к множеству стрессов с цинковыми пальцами
<i>Грейпфрут</i>	B5AMJ0	Предположительный полипротеин репликазы
<i>Грейпфрут</i>	I7CYN5	Предположительная РНК-зависимая РНК-полимераза
<i>Грейпфрут</i>	Q8RVR2	Предположительная терпенсинтаза
<i>Грейпфрут</i>	B5TE89	Предположительный неохарактеризованный белок
<i>Грейпфрут</i>	Q8JVF3	Предположительный неохарактеризованный белок
<i>Грейпфрут</i>	F8WLB0	Предположительный неохарактеризованный белок ORF43
<i>Грейпфрут</i>	A5JVP4	Предположительная вирусная репликаза
<i>Грейпфрут</i>	M1JAW3	Репликаза
<i>Грейпфрут</i>	H6VXK8	Полипротеин репликазы
<i>Грейпфрут</i>	J9UF50 (+1)	Полипротеин 1a репликазы
<i>Грейпфрут</i>	J9RV45	Полипротеин 2a репликазы
<i>Грейпфрут</i>	Q5EGG5	Полипротеин, ассоциированный с репликазой
<i>Грейпфрут</i>	G9I823	Белок 1 с мотивом распознавания РНК
<i>Грейпфрут</i>	J7EPC0	РНК-зависимая РНК-полимераза
<i>Грейпфрут</i>	Q6DN67	РНК-зависимая РНК-полимераза L
<i>Грейпфрут</i>	A9CQM4	Гомолог SEPALLATA1
<i>Грейпфрут</i>	Q9SLS2	Сахарозосинтаза
<i>Грейпфрут</i>	Q9SLV8 (+1)	Сахарозосинтаза
<i>Грейпфрут</i>	Q38JC1	Индукцируемый температурой липокалин
<i>Грейпфрут</i>	D0ELH6	Тиоредоксин, содержащий тетратрикопептидный домен
<i>Грейпфрут</i>	D2KU75	Тауматин-подобный белок
<i>Грейпфрут</i>	C3VIC2	Фактор элонгации трансляции
<i>Грейпфрут</i>	D5LY07	Убиквитин/рибосомальный слитый белок
<i>Грейпфрут</i>	C6KI43	Белок семейства 1 UDP-глюкозилтрансферазы
<i>Грейпфрут</i>	A0FKR1	Вакуолярный симпортер цитрата/H ⁺

<i>Грейнфрут</i>	Q944C8	Вакуолярная инвертаза
<i>Грейнфрут</i>	Q9MB46	Субъединица E протонной АТФазы V-типа
<i>Грейнфрут</i>	F8WL82	Белок семейства повторов WD-40
<i>Helianthus annuus</i>	HanXRQChr0 3g0080391	Hsp90
<i>Helianthus annuus</i>	HanXRQChr1 3g0408351	Hsp90
<i>Helianthus annuus</i>	HanXRQChr1 3g0408441	Hsp90
<i>Helianthus annuus</i>	HanXRQChr1 4g0462551	Hsp90
<i>Helianthus annuus</i>	HanXRQChr0 2g0044471	Hsp70
<i>Helianthus annuus</i>	HanXRQChr0 2g0044481	Hsp70
<i>Helianthus annuus</i>	HanXRQChr0 5g0132631	Hsp70
<i>Helianthus annuus</i>	HanXRQChr0 5g0134631	Hsp70
<i>Helianthus annuus</i>	HanXRQChr0 5g0134801	Hsp70
<i>Helianthus annuus</i>	HanXRQChr1 0g0299441	Глутатион-S-трансфераза
<i>Helianthus annuus</i>	HanXRQChr1 6g0516291	Глутатион-S-трансфераза
<i>Helianthus annuus</i>	HanXRQChr0 3g0091431	Лактат/малатдегидрогеназа
<i>Helianthus annuus</i>	HanXRQChr1 3g0421951	Лактат/малатдегидрогеназа
<i>Helianthus annuus</i>	HanXRQChr1 0g0304821	Лактат/малатдегидрогеназа
<i>Helianthus annuus</i>	HanXRQChr1 2g0373491	Лактат/малатдегидрогеназа
<i>Helianthus annuus</i>	HanXRQChr0	Суперсемейство малых GTPаз, тип Rab

	1g0031071	
Helianthus annuus	HanXRQChr0 1g0031091	Суперсемейство малых ГТФаз, тип Rab
Helianthus annuus	HanXRQChr0 2g0050791	Суперсемейство малых ГТФаз, тип Rab
Helianthus annuus	HanXRQChr1 1g0353711	Суперсемейство малых ГТФаз, тип Rab
Helianthus annuus	HanXRQChr1 3g0402771	Суперсемейство малых ГТФаз, тип Rab
Helianthus annuus	HanXRQChr0 7g0190171	Изоцитрат/изопропилмалатдегидрогеназа
Helianthus annuus	HanXRQChr1 6g0532251	Изоцитрат/изопропилмалатдегидрогеназа
Helianthus annuus	HanXRQChr0 3g0079131	Фосфоенолпируваткарбоксилаза
Helianthus annuus	HanXRQChr1 5g0495261	Фосфоенолпируваткарбоксилаза
Helianthus annuus	HanXRQChr1 3g0388931	Фосфоенолпируваткарбоксилаза
Helianthus annuus	HanXRQChr1 4g0442731	Фосфоенолпируваткарбоксилаза
Helianthus annuus	HanXRQChr1 5g0482381	УТР-глюкозо-1-фосфатуридилтрансфераза
Helianthus annuus	HanXRQChr1 6g0532261	УТР-глюкозо-1-фосфатуридилтрансфераза
Helianthus annuus	HanXRQChr0 5g0135591	Тубулин
Helianthus annuus	HanXRQChr0 6g0178921	Тубулин
Helianthus annuus	HanXRQChr0 8g0237071	Тубулин
Helianthus annuus	HanXRQChr1 1g0337991	Тубулин
Helianthus annuus	HanXRQChr1	Тубулин

	3g0407921	
Helianthus annuus	HanXRQChr0 5g0145191	Тубулин
Helianthus annuus	HanXRQChr0 7g0187021	Тубулин
Helianthus annuus	HanXRQChr0 7g0189811	Тубулин
Helianthus annuus	HanXRQChr0 9g0253681	Тубулин
Helianthus annuus	HanXRQChr1 0g0288911	Тубулин
Helianthus annuus	HanXRQChr1 1g0322631	Тубулин
Helianthus annuus	HanXRQChr1 2g0367231	Тубулин
Helianthus annuus	HanXRQChr1 3g0386681	Тубулин
Helianthus annuus	HanXRQChr1 3g0393261	Тубулин
Helianthus annuus	HanXRQChr1 2g0371591	Убиквитин
Helianthus annuus	HanXRQChr1 2g0383641	Убиквитин
Helianthus annuus	HanXRQChr1 7g0569881	Убиквитин
Helianthus annuus	HanXRQChr0 6g0171511	Фотосистема II HCF136, фактор стабильности/сборки
Helianthus annuus	HanXRQChr1 7g0544921	Фотосистема II HCF136, фактор стабильности/сборки
Helianthus annuus	HanXRQChr1 6g0526461	Субъединица протеасомы В-типа
Helianthus annuus	HanXRQChr1 7g0565551	Субъединица протеасомы В-типа
Helianthus annuus	HanXRQChr0	Субъединица протеасомы В-типа

	5g0149801	
Helianthus annuus	HanXRQChr0 9g0241421	Субъединица протеасомы В-типа
Helianthus annuus	HanXRQChr1 1g0353161	Субъединица протеасомы В-типа
Helianthus annuus	HanXRQChr1 6g0506311	Семейство ингибиторов протеиназ I3 (Kunitz)
Helianthus annuus	HanXRQChr1 6g0506331	Семейство ингибиторов протеиназ I3 (Kunitz)
Helianthus annuus	HanXRQChr0 9g0265401	Металлопептидаза (семейство M10)
Helianthus annuus	HanXRQChr0 9g0265411	Металлопептидаза (семейство M10)
Helianthus annuus	HanXRQChr0 5g0154561	АТФаза, ААА-тип
Helianthus annuus	HanXRQChr0 8g0235061	АТФаза, ААА-тип
Helianthus annuus	HanXRQChr0 9g0273921	АТФаза, ААА-тип
Helianthus annuus	HanXRQChr1 6g0498881	АТФаза, ААА-тип
Helianthus annuus	HanXRQChr0 2g0058711	Дегидрогеназа-ацилтрансфераза оксокислот
Helianthus annuus	HanXRQChr0 8g0214191	Дегидрогеназа-ацилтрансфераза оксокислот
Helianthus annuus	HanXRQChr0 8g0208631	Суперсемейство малых GTPаз, тип SAR1
Helianthus annuus	HanXRQChr1 1g0331441	Суперсемейство малых GTPаз, тип SAR1
Helianthus annuus	HanXRQChr1 2g0371571	Суперсемейство малых GTPаз, тип SAR1
Helianthus annuus	HanXRQChr1 2g0383571	Суперсемейство малых GTPаз, тип SAR1
Helianthus annuus	HanXRQChr1	Суперсемейство малых GTPаз, тип SAR1

	4g0446771	
Helianthus annuus	HanXRQChr1 7g0539461	Суперсемейство малых GTPаз, тип SAR1
Helianthus annuus	HanXRQChr1 7g0548271	Суперсемейство малых GTPаз, тип SAR1
Helianthus annuus	HanXRQChr1 7g0569871	Суперсемейство малых GTPаз, тип SAR1
Helianthus annuus	HanXRQChr1 0g0311201	АТФаза, комплекс V1, субъединица А
Helianthus annuus	HanXRQChr1 2g0359711	АТФаза, комплекс V1, субъединица А
Helianthus annuus	HanXRQChr0 4g0124671	Фруктозо-1,6-бифосфатаза
Helianthus annuus	HanXRQChr0 6g0176631	Фруктозо-1,6-бифосфатаза
Helianthus annuus	HanXRQCPg 0579861	Фотосистема II PsbD/D2, реакционный центр
Helianthus annuus	HanXRQChr0 0c0439g0574 731	Фотосистема II PsbD/D2, реакционный центр
Helianthus annuus	HanXRQChr0 4g0099321	Фотосистема II PsbD/D2, реакционный центр
Helianthus annuus	HanXRQChr0 8g0210231	Фотосистема II PsbD/D2, реакционный центр
Helianthus annuus	HanXRQChr1 1g0326671	Фотосистема II PsbD/D2, реакционный центр
Helianthus annuus	HanXRQChr1 7g0549121	Фотосистема II PsbD/D2, реакционный центр
Helianthus annuus	HanXRQCPg 0579731	Фотосистема II, белок D1
Helianthus annuus	HanXRQChr0 0c0126g0571 821	Фотосистема II, белок D1
Helianthus annuus	HanXRQChr0	Фотосистема II, белок D1

	0c0165g0572 191	
Helianthus annuus	HanXRQChr0 0c0368g0574 171	Фотосистема II, белок D1
Helianthus annuus	HanXRQChr0 0c0454g0574 931	Фотосистема II, белок D1
Helianthus annuus	HanXRQChr0 0c0524g0575 441	Фотосистема II, белок D1
Helianthus annuus	HanXRQChr0 0c0572g0575 941	Фотосистема II, белок D1
Helianthus annuus	HanXRQChr0 9g0257281	Фотосистема II, белок D1
Helianthus annuus	HanXRQChr1 1g0326571	Фотосистема II, белок D1
Helianthus annuus	HanXRQChr1 1g0327051	Фотосистема II, белок D1
Helianthus annuus	HanXRQChr1 6g0503941	Фотосистема II, белок D1
Helianthus annuus	HanXRQCPg 0580061	Фотосистема II, цитохром b559
Helianthus annuus	HanXRQChr0 1g0020331	Фотосистема II, цитохром b559
Helianthus annuus	HanXRQChr1 0g0283581	Фотосистема II, цитохром b559
Helianthus annuus	HanXRQChr1 0g0284271	Фотосистема II, цитохром b559
Helianthus annuus	HanXRQChr1 0g0289291	Фотосистема II, цитохром b559
Helianthus annuus	HanXRQChr1 0g0318171	Фотосистема II, цитохром b559

Helianthus annuus	HanXRQChr1 1g0326851	Фотосистема II, цитохром b559
Helianthus annuus	HanXRQChr1 6g0529011	Фотосистема II, цитохром b559
Helianthus annuus	HanXRQChr0 8g0219051	Хлорофилл А-В-связывающий белок
Helianthus annuus	HanXRQChr1 2g0370841	Хлорофилл А-В-связывающий белок
Helianthus annuus	HanXRQChr0 2g0053151	Хлорофилл А-В-связывающий белок
Helianthus annuus	HanXRQChr0 2g0053161	Хлорофилл А-В-связывающий белок
Helianthus annuus	HanXRQCPg 0580051	цитохром f
Helianthus annuus	HanXRQChr0 1g0020341	цитохром f
Helianthus annuus	HanXRQChr1 0g0283571	цитохром f
Helianthus annuus	HanXRQChr1 0g0284261	цитохром f
Helianthus annuus	HanXRQChr1 0g0289281	цитохром f
Helianthus annuus	HanXRQChr1 0g0318181	цитохром f
Helianthus annuus	HanXRQChr1 1g0326841	цитохром f
Helianthus annuus	HanXRQChr1 5g0497521	цитохром f
Helianthus annuus	HanXRQChr0 6g0163851	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr0 9g0252071	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr1 2g0374041	рибосомальный белок

Helianthus annuus	HanXRQChr0 4g0128141	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr0 5g0163131	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr0 3g0076971	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr0 5g0159851	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr0 5g0159971	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr1 1g0324631	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr1 3g0408051	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr0 3g0089331	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr1 3g0419951	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr1 5g0497041	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr1 6g0499761	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr0 4g0106961	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr0 6g0175811	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr0 4g0122771	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr0 9g0245691	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr1 6g0520021	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr0 3g0060471	рибосомальный белок

Helianthus annuus	HanXRQChr1 4g0429531	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr0 6g0171911	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr1 5g0479091	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr1 5g0479101	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr1 7g0543641	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr1 7g0543661	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr0 4g0105831	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr0 9g0258341	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr1 0g0287141	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr1 5g0463911	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr0 3g0076171	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr0 5g0159291	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr1 3g0407551	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr1 2g0380701	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr1 5g0477271	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr1 7g0545211	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr1 7g0570741	рибосомальный белок

Helianthus annuus	HanXRQChr1 7g0570761	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr0 2g0044021	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr0 5g0152871	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr0 1g0012781	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr0 8g0230861	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr1 3g0391831	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr1 1g0337791	Бифункциональный ингибитор трипсина/альфа-амилазы
Helianthus annuus	HanXRQChr1 0g0312371	Дегидрогеназа-ацилтрансфераза 2-оксокислот
Helianthus annuus	HanXRQChr0 9g0276191	Кислая фосфатаза (класс B)
Helianthus annuus	HanXRQChr0 5g0142271	Альдозо-1-эпимераза
Helianthus annuus	HanXRQChr1 4g0439791	Альфа-D-фосфогексомутаза
Helianthus annuus	HanXRQChr0 9g0251071	Альфа-L-фукозидаза
Helianthus annuus	HanXRQChr0 5g0147371	Аннексин
Helianthus annuus	HanXRQChr0 9g0247561	Протеаза Asp (семейство A1 пептидаз)
Helianthus annuus	HanXRQChr1 3g0409681	Фермент берберинового мостика (S) - ретикулин:оксидоредуктаза кислорода
Helianthus annuus	HanXRQChr1 0g0295971	Бета-гидроксиацил-(ацил-белок-носитель)-дегидратаза
Helianthus annuus	HanXRQChr1 3g0412571	Карбогидратэстераза семейства 13 - CE13 (пектинацилэстераза - PAE)

Helianthus annuus	HanXRQChr1 2g0360101	Карбогидратэстераза семейства 8 - CE8 (пектинметилэстераза - PME)
Helianthus annuus	HanXRQChr0 1g0019231	Карбоангидраза
Helianthus annuus	HanXRQChr0 2g0036611	Белок, осуществляющий клеточное связывание ретинальдегида/транспорт альфа-токоферола
Helianthus annuus	HanXRQChr1 0g0313581	Шаперонин Сrp60
Helianthus annuus	HanXRQChr0 9g0251791	Хлатрин
Helianthus annuus	HanXRQChr1 1g0329811	Хлорофилл А-В-связывающий белок
Helianthus annuus	HanXRQChr1 3g0398861	Кобаламин (витамин В12) -независимая метионинсинтаза
Helianthus annuus	HanXRQChr1 0g0298981	Циклофилин
Helianthus annuus	HanXRQChr0 4g0103281	Цис-протеаза (семейство папаина)
Helianthus annuus	HanXRQChr0 9g0268361	Цитохром P450
Helianthus annuus	HanXRQChr1 7g0535591	Дириджентный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr0 3g0065901	Экспансин
Helianthus annuus	HanXRQChr1 1g0336761	Экспрессируемый белок (домен купина, домен запасного белка семян)
Helianthus annuus	HanXRQChr1 0g0280931	Экспрессируемый белок (домен купина, домен запасного белка семян)
Helianthus annuus	HanXRQChr1 0g0288971	Экспрессируемый белок (домен купина, домен запасного белка семян)
Helianthus annuus	HanXRQChr1 2g0380361	Экспрессируемый белок (домен купина, домен запасного белка семян)
Helianthus annuus	HanXRQChr0 9g0254381	Экспрессируемый белок (домен купина, домен запасного белка семян)

Helianthus annuus	HanXRQChr0 4g0112711	Экспрессируемый белок (домен купина, домен запасного белка семян)
Helianthus annuus	HanXRQChr0 7g0196131	Экспрессируемый белок (домен купина, домен запасного белка семян)
Helianthus annuus	HanXRQChr1 0g0301281	Экспрессируемый белок (домен купина, домен запасного белка семян)
Helianthus annuus	HanXRQChr1 0g0301931	Экспрессируемый белок (домен купина, домен запасного белка семян)
Helianthus annuus	HanXRQChr1 3g0404461	Экспрессируемый белок (домен купина)
Helianthus annuus	HanXRQChr0 1g0015821	Экспрессируемый белок (DUF642)
Helianthus annuus	HanXRQChr0 3g0065301	Экспрессируемый белок (Gnk2-гомологичный домен, противогрибковый белок из семян гинкго)
Helianthus annuus	HanXRQChr0 3g0068311	Экспрессируемый белок (домены LRR)
Helianthus annuus	HanXRQChr1 0g0291371	Экспрессируемый белок (домены LRR)
Helianthus annuus	HanXRQChr0 3g0075061	Фасциклин-подобный арабиногалактановый белок (FLA)
Helianthus annuus	HanXRQChr0 8g0221961	Ферритин
Helianthus annuus	HanXRQChr0 9g0257521	FMN-зависимая дегидрогеназа
Helianthus annuus	HanXRQChr1 4g0441641	Фруктозобисфосфатальдолаза
Helianthus annuus	HanXRQChr1 0g0312621	Гермин
Helianthus annuus	HanXRQChr0 9g0244271	Глюкозометанолхолиноксидоредуктаза
Helianthus annuus	HanXRQChr0 3g0061571	Глутаматсинтаза
Helianthus annuus	HanXRQChr0 5g0144801	Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа

Helianthus annuus	HanXRQChr1 7g0550211	Глицерофосфорилдифосфодиэстераза
Helianthus annuus	HanXRQChr0 6g0175391	Семейство гликозилгидролаз 16 - GH16 (эндоксилоглюкантрансфераза)
Helianthus annuus	HanXRQChr1 1g0351571	Семейство гликозидгидролаз 17 - GH17 (бета-1,3- глюкозидаза)
Helianthus annuus	HanXRQChr0 5g0141461	Семейство гликозидгидролаз 18 - GH18
Helianthus annuus	HanXRQChr0 9g0276721	Семейство гликозидгидролаз 19 - GH19
Helianthus annuus	HanXRQChr0 2g0046191	Семейство гликозидгидролаз 2 - GH2
Helianthus annuus	HanXRQChr1 6g0524981	Семейство гликозидгидролаз 20 - GH20 (N- ацетил-бета-глюкозаминидаза)
Helianthus annuus	HanXRQChr1 1g0322851	Семейство гликозидгидролаз 27 - GH27 (альфа- галактозидаза/мелибиаза)
Helianthus annuus	HanXRQChr1 0g0293191	Семейство гликозидгидролаз 3 - GH3
Helianthus annuus	HanXRQChr1 6g0511881	Семейство гликозидгидролаз 31 - GH31 (альфа- ксилозидаза)
Helianthus annuus	HanXRQChr1 4g0461441	Семейство гликозидгидролаз 32 - GH32 (вакуолярная инвертаза)
Helianthus annuus	HanXRQChr1 3g0423671	Семейство гликозидгидролаз 35 - GH35 (бета- галактозидаза)
Helianthus annuus	HanXRQChr1 0g0319301	Семейство гликозидгидролаз 35 - GH35 (бета- галактозидаза)
Helianthus annuus	HanXRQChr0 9g0256531	Семейство гликозидгидролаз 38 - GH38 (альфа- маннозидаза)
Helianthus annuus	HanXRQChr1 1g0320901	Семейство гликозидгидролаз 5 - GH5 (глюкан- 1,3-бета-глюкозидаза)
Helianthus annuus	HanXRQChr0 5g0130491	Семейство гликозидгидролаз 51 - GH51 (альфа- арабинофуранозидаса)
Helianthus annuus	HanXRQChr1 0g0314191	Семейство гликозидгидролаз 79 - GH79 (эндо- бета-глюкуронидаза/гепараназа,

Helianthus annuus	HanXRQChr1 3g0397411	гомологичная PMR5 <i>A. thaliana</i> (устойчивость к мучнистой росе) (ацилирование углеводов)
Helianthus annuus	HanXRQChr1 4g0444681	Семейство ингибиторов I3 (семейство Kunitz-P)
Helianthus annuus	HanXRQChr1 4g0445181	Лактат/малатдегидрогеназа
Helianthus annuus	HanXRQChr1 7g0564111	Лектин (D-манноза)
Helianthus annuus	HanXRQChr1 7g0558861	Лектин (домен PAN-2)
Helianthus annuus	HanXRQChr0 2g0039251	Липаза-ацилгидролаза (семейство GDSL)
Helianthus annuus	HanXRQChr0 1g0000161	Белок-переносчик липидов/ингибитор трипсина альфа и амилазы
Helianthus annuus	HanXRQChr0 2g0047121	Лектин, связывающий маннозу
Helianthus annuus	HanXRQChr1 0g0303361	Митохондриальный белок-носитель
Helianthus annuus	HanXRQChr1 5g0489551	Мультимедьоксидаза
Helianthus annuus	HanXRQChr0 5g0135581	Нейтральная/щелочная нелизосомная церамидаза
Helianthus annuus	HanXRQChr0 1g0017621	Нуклеозиддифосфаткиназа
Helianthus annuus	HanXRQChr1 0g0295991	Пероксидаза
Helianthus annuus	HanXRQChr1 3g0398251	Пероксиредоксин
Helianthus annuus	HanXRQChr1 1g0333171	Фосфат-индуцированный (phi) белок 1
Helianthus annuus	HanXRQChr0 3g0060421	Фосфодиэстераза/нуклеотидпирофосфатаза/фосфаттрансфераза
Helianthus annuus	HanXRQChr0 3g0078011	Фосфофруктокиназа

Helianthus annuus	HanXRQChr1 3g0408831	Фосфоглицераткиназа
Helianthus annuus	HanXRQChr1 0g0286701	Фосфоглицератмутаза
Helianthus annuus	HanXRQChr0 6g0171591	Фотосистема II PsbP, кислород-выделяющий комплекс
Helianthus annuus	HanXRQChr1 4g0434951	Пластидный липид-ассоциированный белок/консервативный домен фибриллина
Helianthus annuus	HanXRQChr0 5g0146621	Пластоцианин (белок, связывающий синюю медь)
Helianthus annuus	HanXRQChr1 1g0330251	Полифенолоксидаза
Helianthus annuus	HanXRQChr0 4g0094541	Субъединица протеасомы А-типа
Helianthus annuus	HanXRQChr0 3g0081271	Субъединица протеасомы В-типа
Helianthus annuus	HanXRQChr1 2g0356851	Пурпурная кислая фосфатаза
Helianthus annuus	HanXRQChr1 5g0485781	Пиридоксальфосфат-зависимая трансфераза
Helianthus annuus	HanXRQChr1 1g0336791	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr1 1g0330521	рибосомальный белок
Helianthus annuus	HanXRQChr1 1g0326801	Рибулозобисфосфаткарбоксилаза, большая субъединица
Helianthus annuus	HanXRQChr1 6g0523951	Рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилаза, малая субъединица
Helianthus annuus	HanXRQChr0 1g0022151	S-аденозил-L-гомоцистеингидролаза
Helianthus annuus	HanXRQChr1 4g0454811	S-аденозилметионинсинтетаза
Helianthus annuus	HanXRQChr0 4g0109991	SCP-подобный внеклеточный белок (PR-1)

Helianthus annuus	HanXRQChr0 3g0072241	Ser карбоксипептидаза (семейство пептидаз S10)
Helianthus annuus	HanXRQChr1 2g0377221	Ser протеаза (субтилизин) (семейство пептидаз S8)
Helianthus annuus	HanXRQChr0 2g0055581	Супероксиддисмутаза
Helianthus annuus	HanXRQChr1 5g0493261	Тауматин (PR5)
Helianthus annuus	HanXRQChr1 6g0532531	Транскетолаза
Helianthus annuus	HanXRQChr0 7g0197421	Фактор элонгации трансляции EFTu/EF1A
Helianthus annuus	HanXRQChr0 6g0173951	Трансляционно контролируемый опухолевый белок

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Композиция для контроля вредителей, содержащая совокупность РМР, где каждый РМР из совокупности РМР содержит гетерологичное пестицидное средство, и где композиция составлена для доставки по отношению к растению или вредителю растения.

2. Композиция для контроля вредителей по п. 1, где гетерологичное пестицидное средство представляет собой гербицидное средство, противобактериальное средство, противогрибковое средство, инсектицидное средство, моллюскоцидное средство или нематоцидное средство.

3. Композиция для контроля вредителей по п. 2, где гербицидное средство представляет собой доксорубицин.

4. Композиция для контроля вредителей по п. 2, где гербицидное средство представляет собой глюфосинат, глифосат, пропаквизафоп, метамитрон, метазахлор, пендиметалин, флуфенацет, дифлуфеникан, кломазон, никосульфурон, мезотрион, пиноксаден, сулькотрион, просульфокарб, сульфентразон, бифенокс, квинмерак, триаллат, тербутилазин, атразин, оксифлуорфен, диурон, трифлуралин или хлортолурун.

5. Композиция для контроля вредителей по п. 2, где противобактериальное средство представляет собой доксорубицин.

6. Композиция для контроля вредителей по п. 2, где противобактериальное средство представляет собой антибиотик.

7. Композиция для контроля вредителей по п. 6, где антибиотик представляет собой ванкомицин.

8. Композиция для контроля вредителей по п. 6, где антибиотик представляет собой пенициллин, цефалоспорин, тетрациклин, макролид, сульфонамид, ванкомицин, полимиксин, грамицидин, хлорамфеникол, клиндамицин, спектиномицин, ципрофлоксацин, изониазид, рифампицин, пипразинамид, этамбутол, миамбутол или стрептомицин.

9. Композиция для контроля вредителей по п. 2, где противогрибковое средство представляет собой азоксистробин, манкозеп, протиоконазол, фолпет, тебуконазол, дифеноконазол, каптан, бупиримат или фозетил-А1.

10. Композиция для контроля вредителей по п. 2, где инсектицидное средство представляет собой хлорникотинил, неоникотиноид, карбамат, фосфорорганическое соединение, пиретроид, оксадиазин, спинозин, циклодиен, хлорорганическое соединение, фипрол, мектин, диацилгидразин, бензоилмочевину, оловоорганическое соединение, пиррол, динитротерпенол, МЕТ1, тетрановую кислоту, тетрамовую кислоту или фталамид.

11. Композиция для контроля вредителей по п. 1, где гетерологичное пестицидное средство представляет собой низкомолекулярное соединение, нуклеиновую кислоту или полипептид.

12. Композиция для контроля вредителей по п. 11, где низкомолекулярное соединение представляет собой антибиотик или вторичный метаболит.

13. Композиция для контроля вредителей по п. 11, где нуклеиновая кислота

представляет собой ингибирующую РНК.

14. Композиция для контроля вредителей по п. 1, где гетерологичное пестицидное средство инкапсулировано каждым РМР из совокупности РМР.

15. Композиция для контроля вредителей по п. 1, где гетерологичное пестицидное средство встроено в поверхность каждого РМР из совокупности РМР.

16. Композиция для контроля вредителей по п. 1, где гетерологичное пестицидное средство конъюгировано с поверхностью каждого РМР из совокупности РМР.

17. Композиция для контроля вредителей по п. 1, где каждый РМР из совокупности РМР дополнительно содержит репеллент против вредителей.

18. Композиция для контроля вредителей по п. 1, где каждый РМР из совокупности РМР дополнительно содержит дополнительное гетерологичное пестицидное средство.

19. Композиция для контроля вредителей по п. 1, где вредитель растения представляет собой бактерию или гриб.

20. Композиция для контроля вредителей по п. 19, где бактерия представляет собой вид *Pseudomonas*.

21. Композиция для контроля вредителей по п. 20, где вид *Pseudomonas* представляет собой *Pseudomonas aeruginosa* или *Pseudomonas syringae*.

22. Способ по п. 19, где гриб представляет собой вид *Sclerotinia*, вид *Botrytis*, вид *Aspergillus*, вид *Fusarium* или вид *Penicillium*.

23. Композиция для контроля вредителей по п. 1, где вредитель растения представляет собой насекомое, моллюска или нематоду.

24. Композиция для контроля вредителей по п. 23, где насекомое представляет собой тлю или чешуекрылое.

25. Композиция для контроля вредителей по п. 23, где нематода представляет собой кукурузную корневую галловую нематоду.

26. Композиция для контроля вредителей по п. 1, где композиция является стабильной в течение по меньшей мере одного дня при комнатной температуре и/или является стабильной в течение по меньшей мере одной недели при 4°C.

27. Композиция для контроля вредителей по п. 1, где РМР являются стабильными в течение по меньшей мере 24 часов, 48 часов, семи дней или 30 дней при 4°C.

28. Композиция для контроля вредителей по п. 27, где РМР являются стабильными при температуре, составляющей по меньшей мере 20°C, 24°C или 37°C.

29. Композиция для контроля вредителей по п. 1, где совокупность РМР в композиции имеет концентрацию, эффективную для снижения приспособленности вредителя растения.

30. Композиция для контроля вредителей по п. 1, где совокупность РМР в композиции имеет концентрацию, составляющую по меньшей мере 1, 10, 50, 100 или 250 мкг белка РМР/мл.

31. Композиция для контроля вредителей по п. 1, где композиция содержит приемлемый с точки зрения сельского хозяйства носитель.

32. Композиция для контроля вредителей по п. 1, где композиция составлена для стабилизации РМР.

33. Композиция для контроля вредителей по п. 1, где композиция составлена в виде жидкой, твердой, аэрозольной, пастообразной, гелеобразной или газообразной композиции.

34. Композиция для контроля вредителей по п. 1, где композиция содержит по меньшей мере 5% РМР.

35. Композиция для контроля вредителей, содержащая совокупность РМР, где РМР выделены из растения с помощью способа, который предусматривает стадии:

(а) получения исходного образца из растения или его части, где растение или его часть содержат EV;

(б) выделения фракции неочищенных РМР из исходного образца, где фракция неочищенных РМР характеризуется пониженным уровнем по меньшей мере одного контаминанта или нежелательного компонента из растения или его части по сравнению с уровнем в исходном образце;

(с) очистки фракции неочищенных РМР с получением совокупности чистых РМР, где совокупность чистых РМР характеризуется пониженным уровнем по меньшей мере одного контаминанта или нежелательного компонента из растения или его части по сравнению с уровнем во фракции неочищенных EV;

(d) загрузки совокупности чистых РМР средством для контроля вредителей; и

(е) составления РМР из стадии (d) для доставки по отношению к растению или вредителю растения.

36. Растение, содержащее композицию для контроля вредителей по п. 1.

37. Вредитель растения, содержащий композицию для контроля вредителей по п. 1.

38. Способ доставки композиции для контроля вредителей по отношению к растению, предусматривающий приведение растения в контакт с композицией по п. 1.

39. Способ повышения приспособленности растения, при этом способ предусматривает доставку по отношению к растению композиции по п. 1, где способ повышает приспособленность растения по сравнению с необработанным растением.

40. Способ по п. 38, где растение заражено вредителем растения.

41. Способ по п. 40, где способ снижает заражение по сравнению с заражением необработанного растения.

42. Способ по п. 40, где способ в значительной степени устраняет заражение по сравнению с заражением необработанного растения.

43. Способ по п. 38, где растение восприимчиво к заражению вредителем растения.

44. Способ по п. 43, где способ снижает вероятность заражения растения по сравнению с вероятностью заражения необработанного растения.

45. Способ по п. 40, где вредитель растения представляет собой бактерию или гриб.

46. Способ по п. 45, где бактерия представляет собой вид *Pseudomonas*.

47. Способ по п. 45, где гриб представляет собой вид *Sclerotinia*, вид *Botrytis*, вид

Aspergillus, вид *Fusarium* или вид *Penicillium*.

48. Способ по п. 40, где вредитель растения представляет собой насекомое, моллюска или нематоду.

49. Способ по п. 48, где насекомое представляет собой тлю или чешуекрылое.

50. Способ по п. 48, где нематода представляет собой кукурузную корневую галловую нематоду.

51. Способ по п. 38, где композицию для контроля вредителей доставляют в виде жидкости, твердого вещества, аэрозоля, пасты, геля или газа.

52. Способ доставки композиции для контроля вредителей по отношению к вредителю растения, предусматривающий приведение вредителя растения в контакт с композицией по п. 1.

53. Способ снижения приспособленности вредителя растения, при этом способ предусматривает доставку вредителю растения композиции по п. 1, где способ снижает приспособленность вредителя растения по сравнению с необработанным вредителем растения.

54. Способ по п. 52, где способ предусматривает доставку композиции в по меньшей мере одну среду обитания, где вредитель растения растет, живет, размножается, питается или осуществляет заражение.

55. Способ по п. 52, где композицию доставляют в виде композиции, съедобной для вредителя растения, для поглощения вредителем растения.

56. Способ по п. 52, где вредитель растения представляет собой бактерию или грибок.

57. Способ по п. 52, где вредитель растения представляет собой насекомое, моллюска или нематоду.

58. Способ по п. 57, где насекомое представляет собой тлю или чешуекрылое.

59. Способ по п. 57, где нематода представляет собой кукурузную корневую галловую нематоду.

60. Способ по п. 52, где композицию доставляют в виде жидкости, твердого вещества, аэрозоля, пасты, геля или газа.

61. Способ обработки растения, пораженного грибковой инфекцией, где способ предусматривает доставку по отношению к растению композиции для контроля вредителей, содержащей совокупность РМР.

62. Способ обработки растения, пораженного грибковой инфекцией, где способ предусматривает доставку по отношению к растению композиции для контроля вредителей, содержащей совокупность РМР, и где каждый РМР из совокупности РМР содержит противогрибковое средство.

63. Способ по п. 62, где противогрибковое средство представляет собой нуклеиновую кислоту, которая подавляет экспрессию гена гриба, вызывающего грибковую инфекцию.

64. Способ по п. 63, где ген представляет собой *dcl1* и/или *dcl2*.

65. Способ по п. 61, где грибковая инфекция вызвана грибом, принадлежащим к

виду *Sclerotinia*, виду *Botrytis*, виду *Aspergillus*, виду *Fusarium* или виду *Penicillium*.

66. Способ по п. 65, где вид *Sclerotinia* представляет собой *Sclerotinia sclerotiorum*.

67. Способ по п. 65, где вид *Botrytis* представляет собой *Botrytis cinerea*.

68. Способ по п. 61, где композиция содержит РМР, полученный из *Arabidopsis*.

69. Способ по п. 61, где способ снижает или в значительной степени устраняет грибковую инфекцию.

70. Способ обработки растения, пораженного бактериальной инфекцией, где способ предусматривает доставку по отношению к растению композиции для контроля вредителей, содержащей совокупность РМР.

71. Способ обработки растения, пораженного бактериальной инфекцией, где способ предусматривает доставку по отношению к растению композиции для контроля вредителей, содержащей совокупность РМР, и где каждый РМР из совокупности РМР содержит противобактериальное средство.

72. Способ по п. 71, где противобактериальное средство представляет собой доксорубицин.

73. Способ по п. 70, где бактериальная инфекция вызвана бактерией, принадлежащей к *Pseudomonas* spp.

74. Способ по п. 73, где *Pseudomonas* spp. представляет собой *Pseudomonas syringae*.

75. Способ по п. 70, где композиция содержит РМР, полученный из *Arabidopsis*.

76. Способ по п. 70, где способ снижает или в значительной степени устраняет бактериальную инфекцию.

77. Способ снижения приспособленности насекомого, являющегося вредителем растения, где способ предусматривает доставку по отношению к насекомому, являющемуся вредителем растения, композиции для контроля вредителей, содержащей совокупность РМР.

78. Способ снижения приспособленности насекомого, являющегося вредителем растения, где способ предусматривает доставку по отношению к насекомому, являющемуся вредителем растения, композиции для контроля вредителей, содержащей совокупность РМР, и где каждый РМР из совокупности РМР содержит инсектицидное средство.

79. Способ по п. 78, где инсектицидное средство представляет собой пептидную нуклеиновую кислоту.

80. Способ по п. 77, где насекомое, являющееся вредителем растения, представляет собой тлю.

81. Способ по п. 77, где насекомое, являющееся вредителем растения, представляет собой чешуекрылое.

82. Способ по п. 81, где чешуекрылое представляет собой *Spodoptera frugiperda*.

83. Способ по п. 77, где способ снижает приспособленность насекомого, являющегося вредителем растения, по сравнению с необработанным насекомым,

являющимся вредителем растения.

84. Способ снижения приспособленности нематоды, являющейся вредителем растения, где способ предусматривает доставку по отношению к нематоды, являющейся вредителем растения, композиции для контроля вредителей, содержащей совокупность РМР.

85. Способ снижения приспособленности нематоды, являющейся вредителем растения, где способ предусматривает доставку по отношению к нематоды, являющейся вредителем растения, композиции для контроля вредителей, содержащей совокупность РМР, и где каждый РМР из совокупности РМР содержит нематоцидное средство.

86. Способ по п. 85, где нематоцидное средство представляет собой пептид.

87. Способ по п. 86, где пептид представляет собой Mi-NLP-15b.

88. Способ по п. 84, где нематода, являющаяся вредителем растения, представляет собой кукурузную корневую галловую нематоду.

89. Способ по п. 84, где способ снижает приспособленность нематоды, являющейся вредителем растения, по сравнению с необработанной нематодой, являющейся вредителем растения.

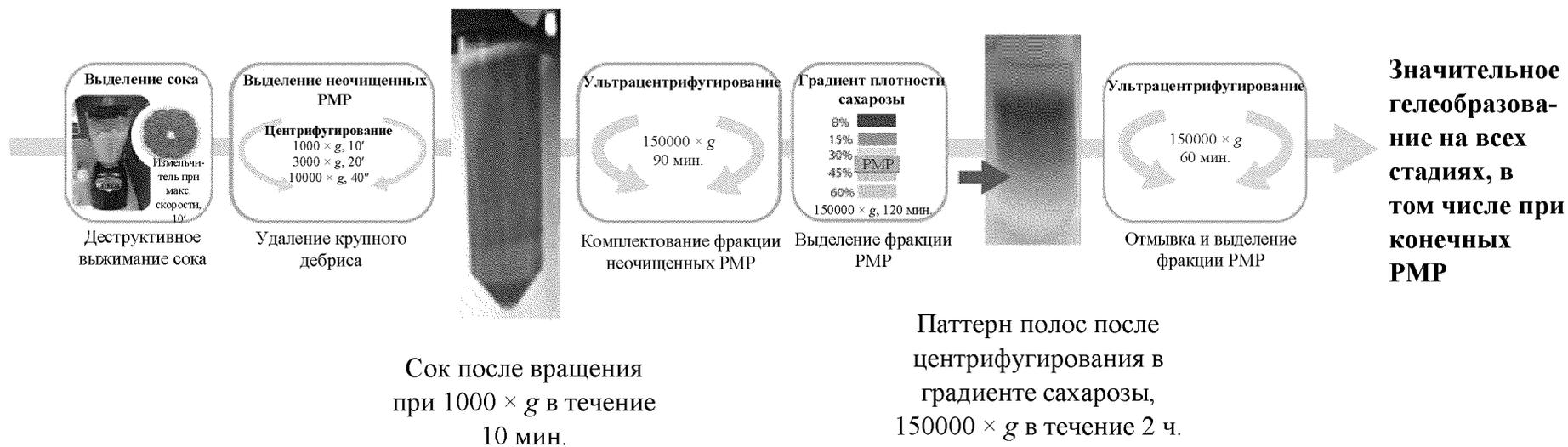
90. Способ снижения приспособленности сорняка, где способ предусматривает доставку по отношению к сорняку композиции для контроля вредителей, содержащей совокупность РМР.

91. Способ снижения приспособленности сорняка, где способ предусматривает доставку по отношению к сорняку композиции для контроля вредителей, содержащей совокупность РМР, и где каждый РМР из совокупности РМР содержит гербицидное средство.

92. Способ по п. 90 или п. 91, где способ снижает приспособленность сорняка по сравнению с необработанным сорняком.

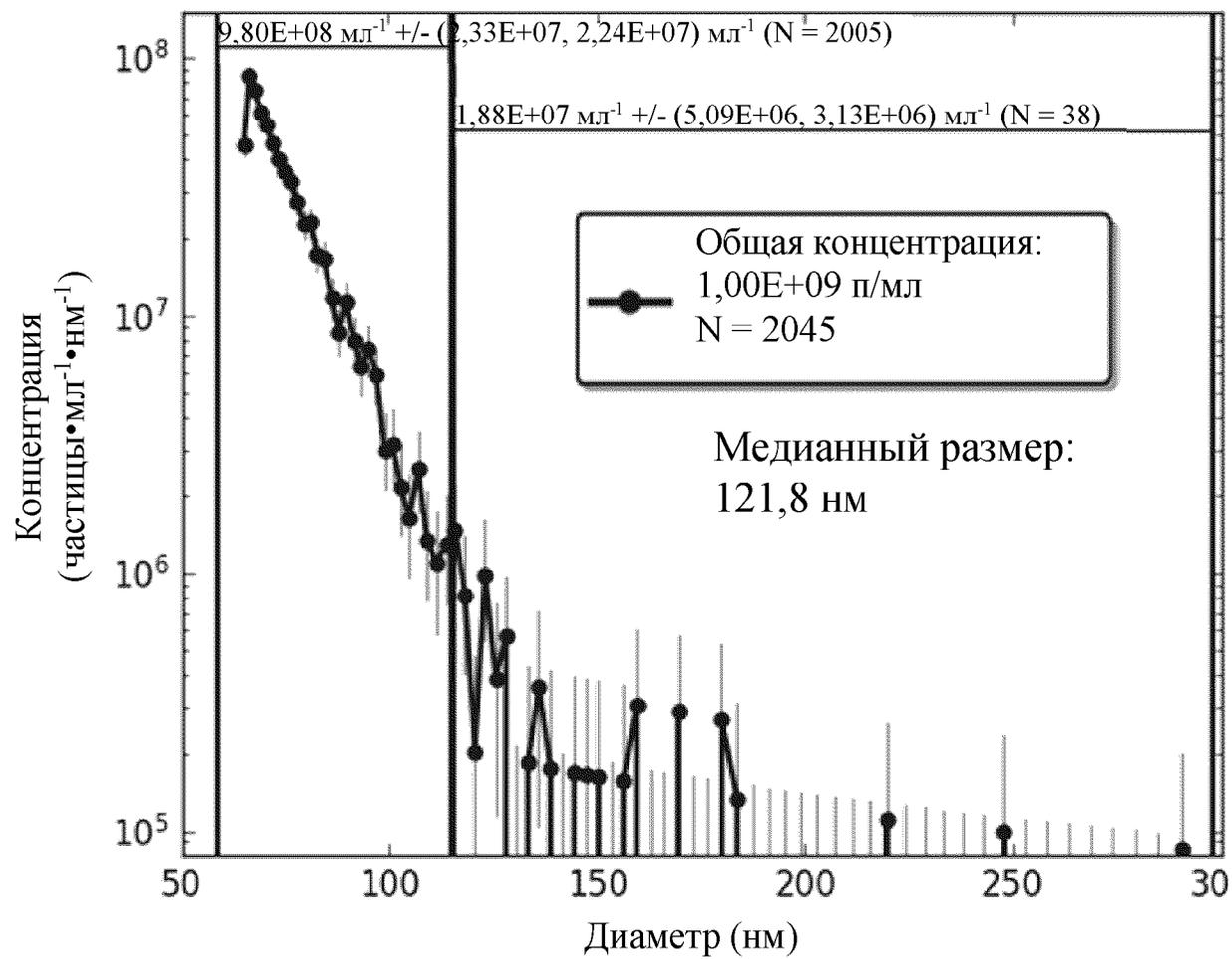
По доверенности

Фиг. 1А

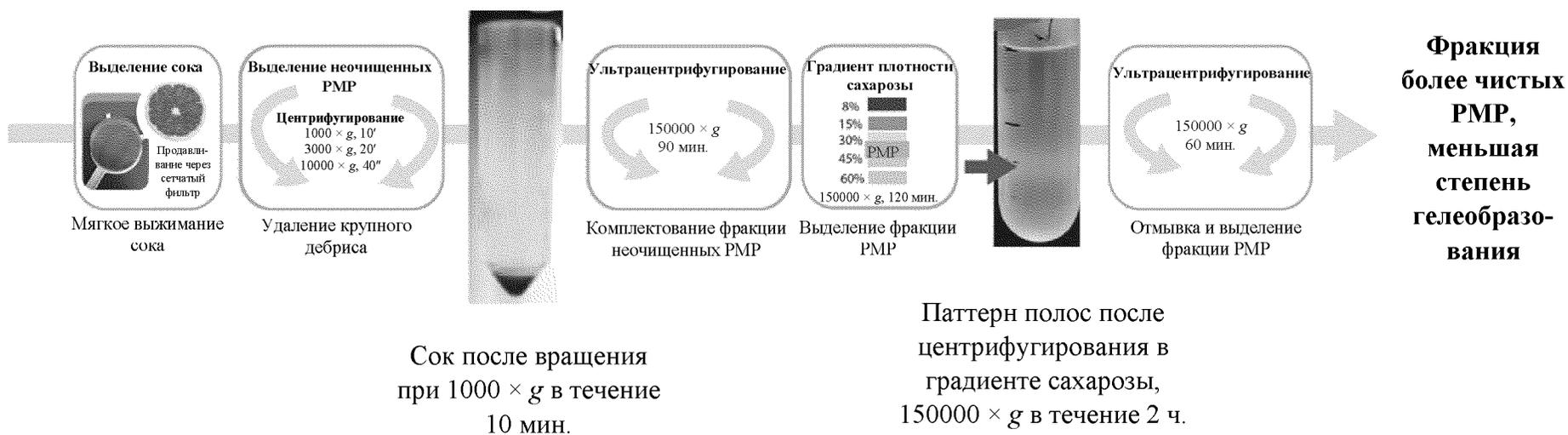


Фиг. 1В

**PM18-2 Нормированный и
отфильтрованный**

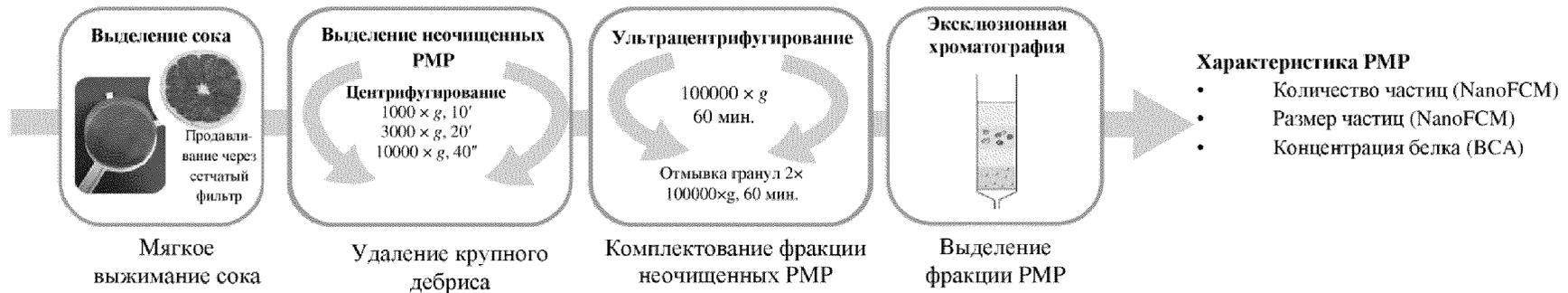


Фиг. 2

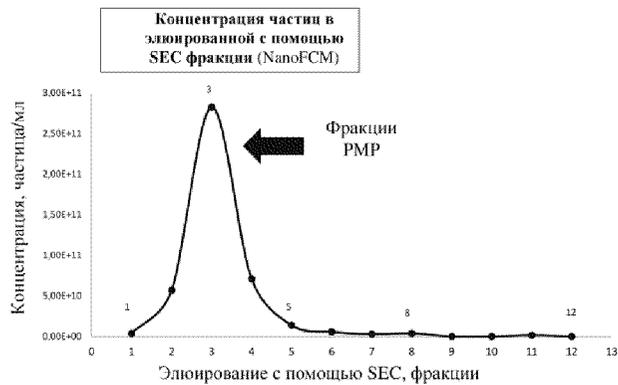


Центрифугировани

Фиг. 3А



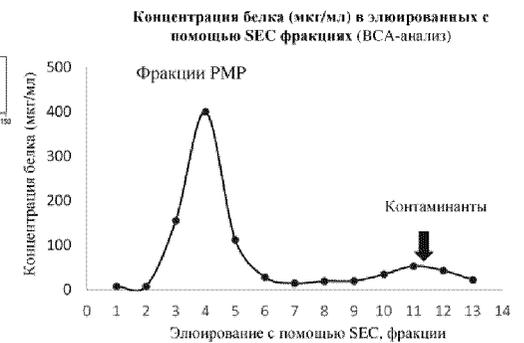
Фиг. 3В



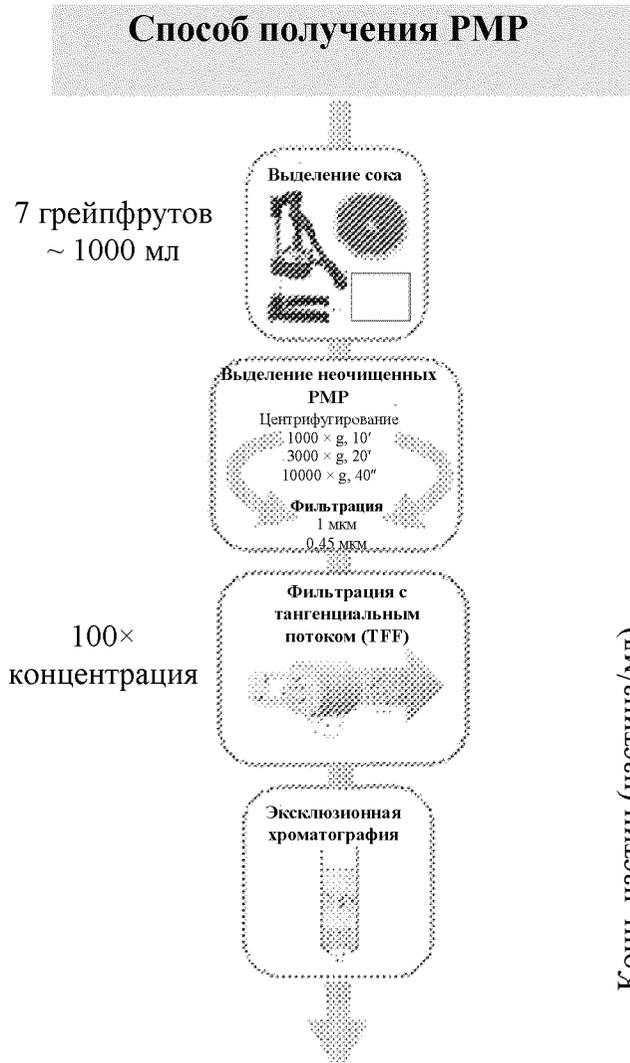
Фиг. 3С



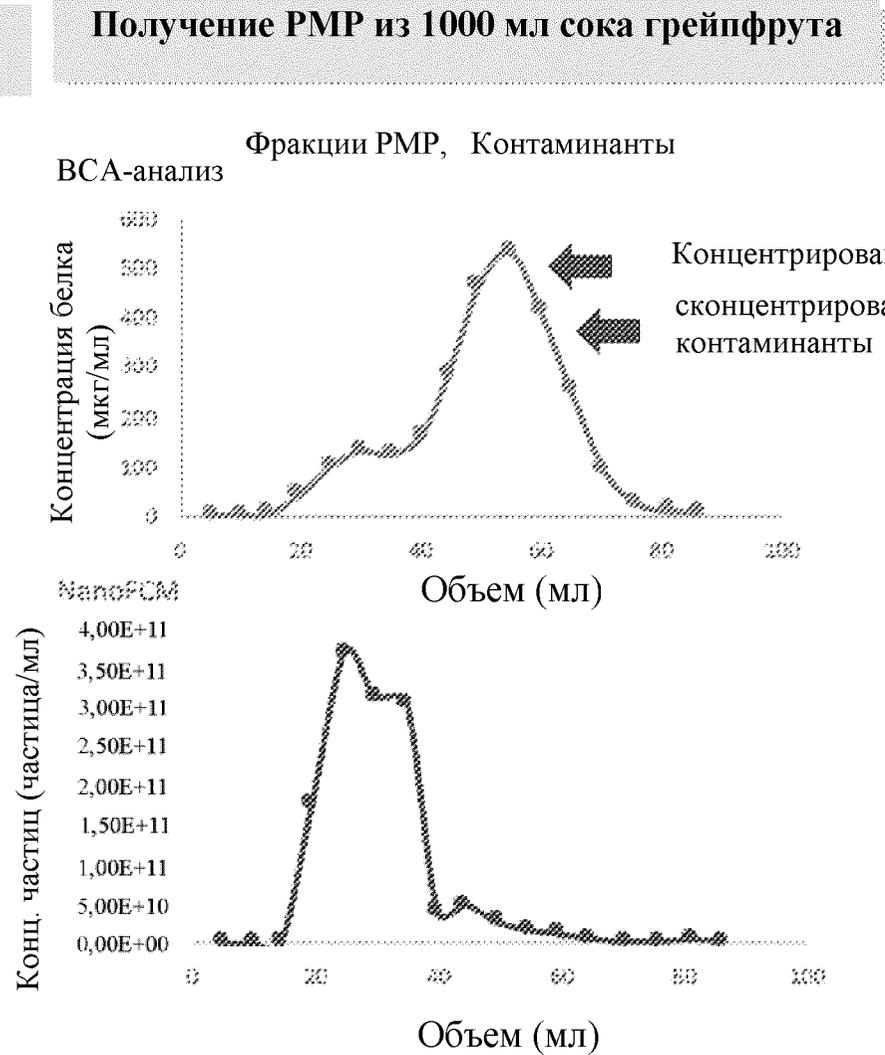
Фиг. 3D



Фиг. 4А

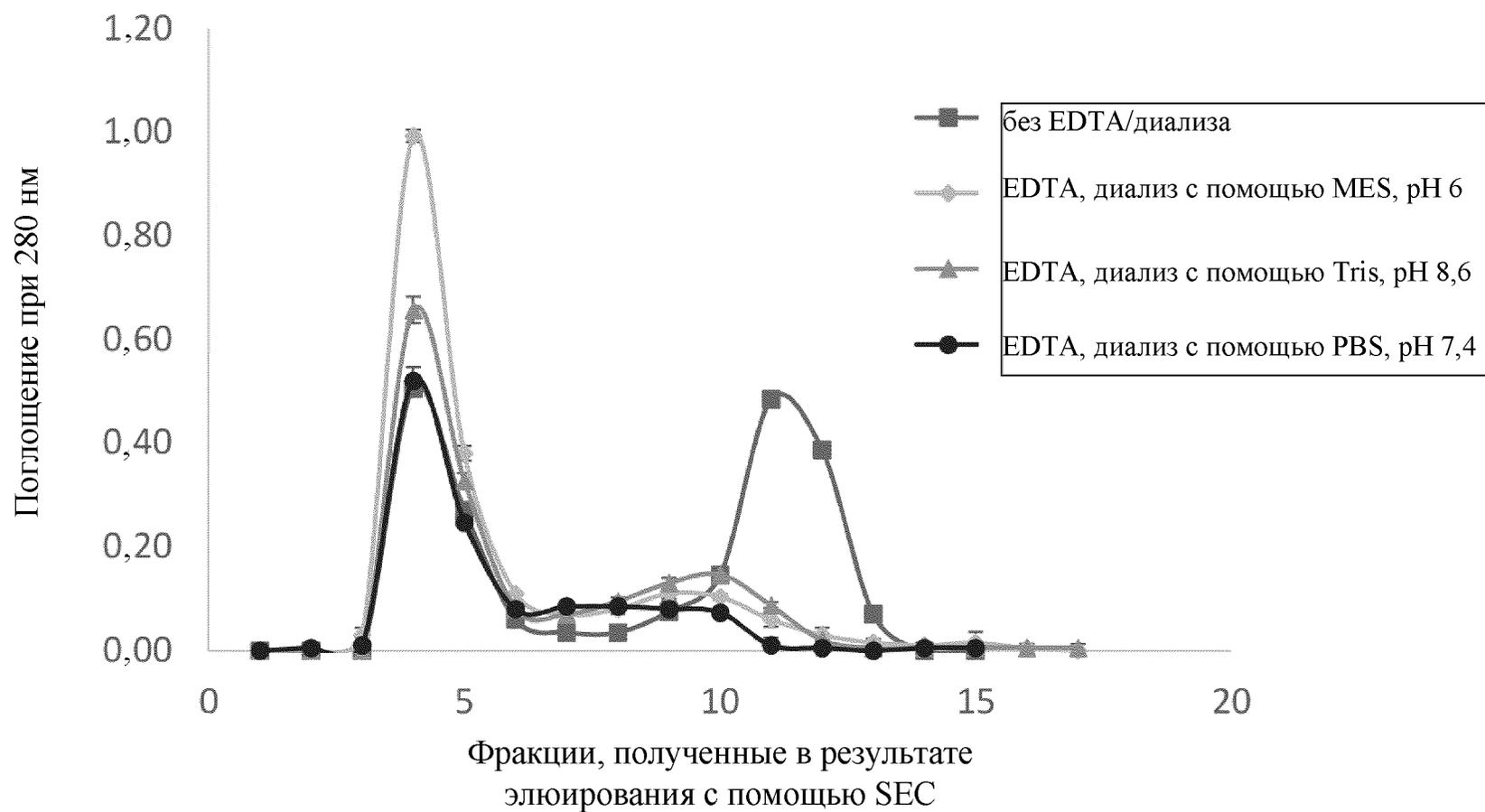


Фиг. 4В



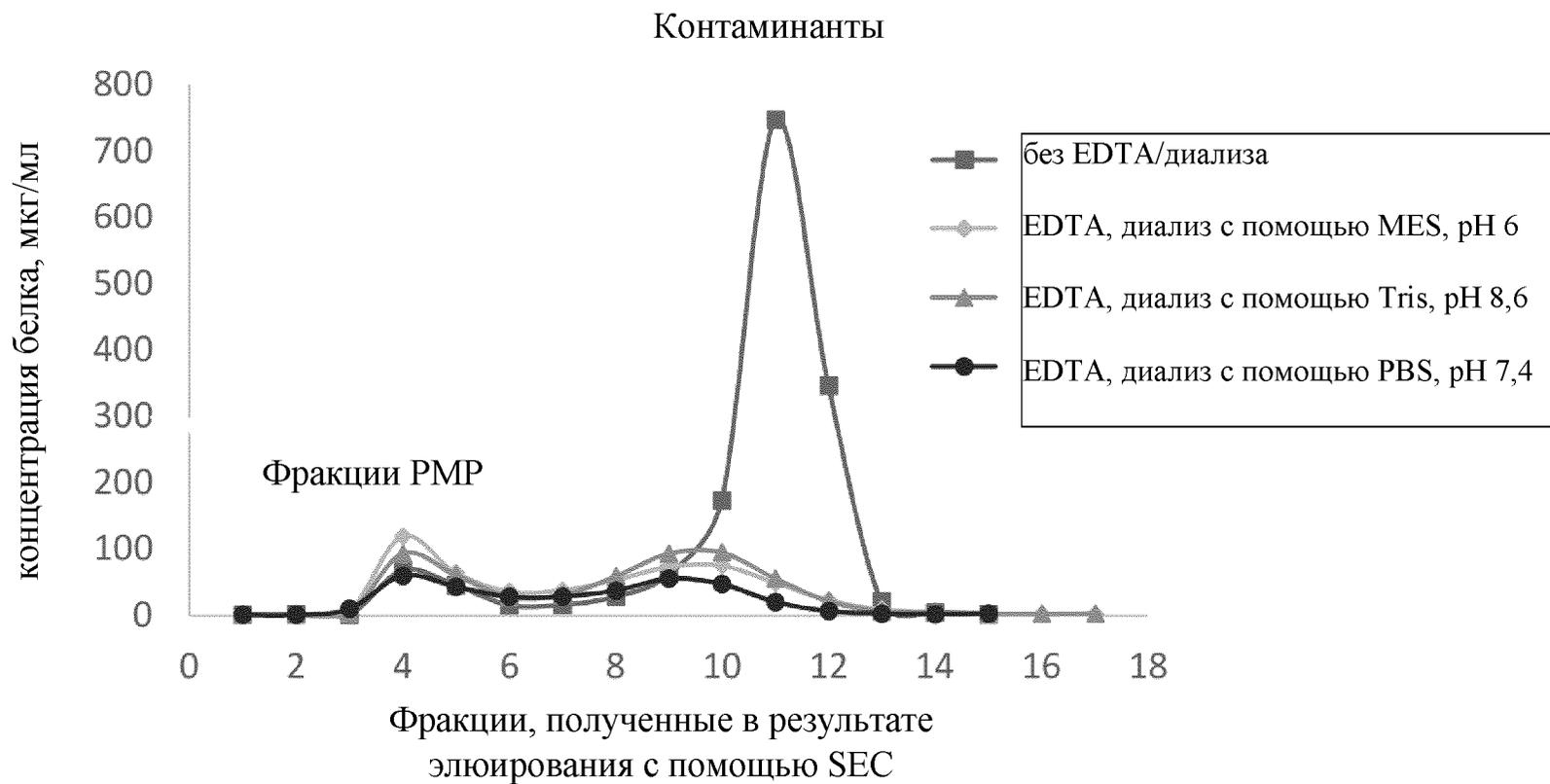
Фиг. 4С

Поглощение при 280 нм (A.U.) элюированными с помощью SEC фракциями

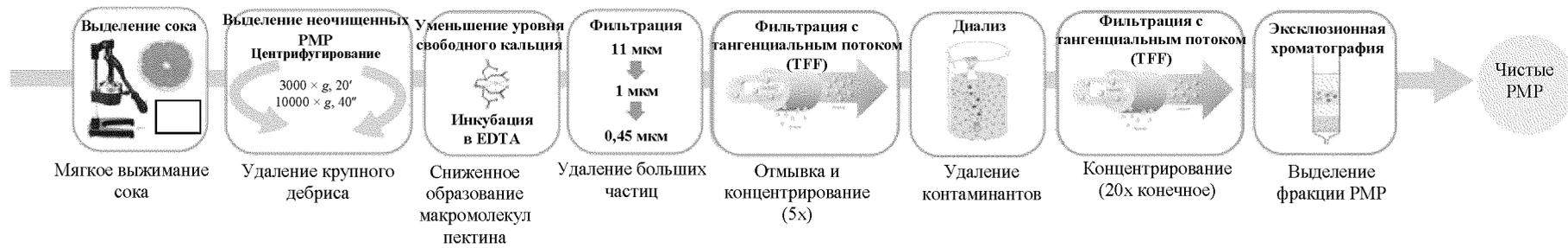


Фиг. 4D

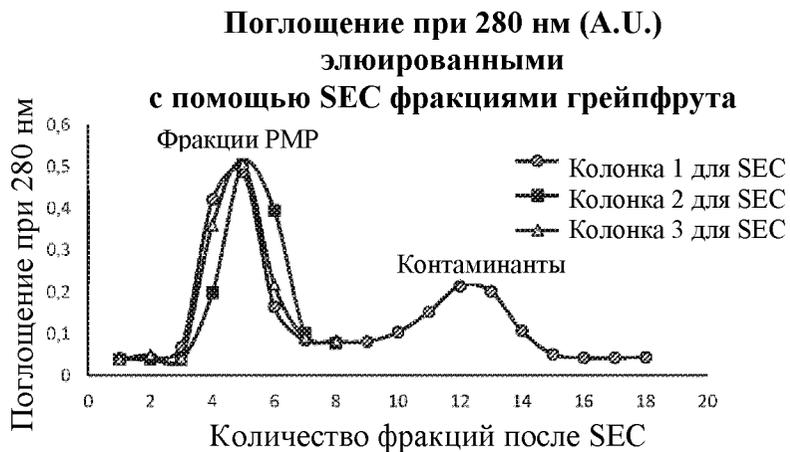
Концентрация белка (мкг/мл) в элюированных с помощью SEC фракциях



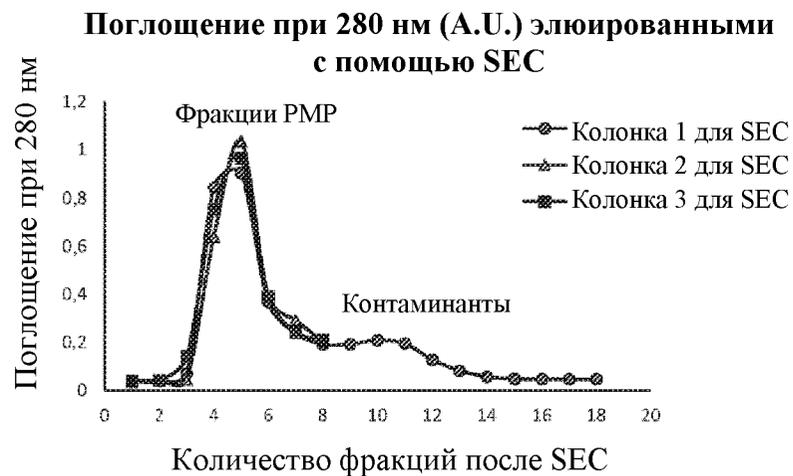
Фиг. 5А



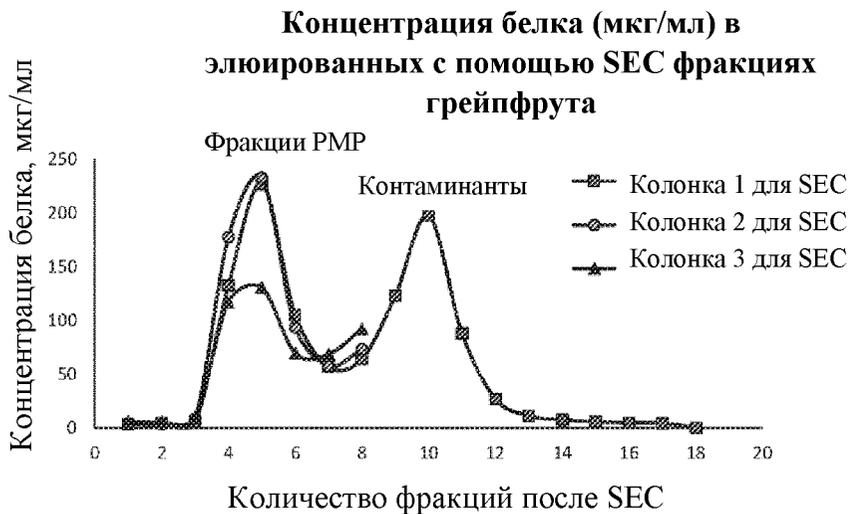
Фиг. 5В



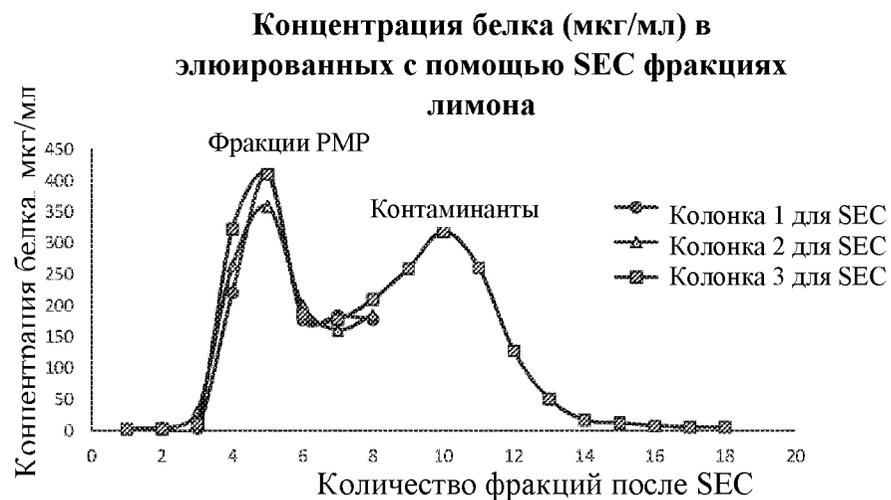
Фиг. 5D



Фиг. 5С

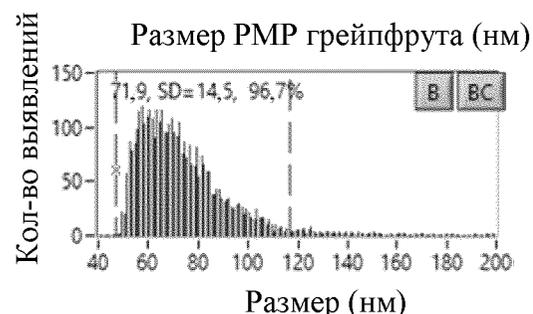
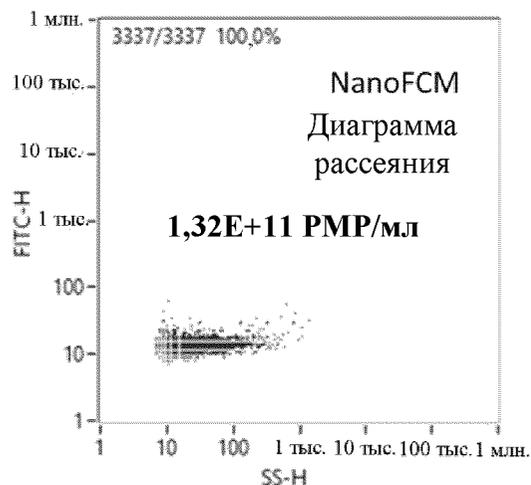


Фиг. 5Е



Фиг. 5F

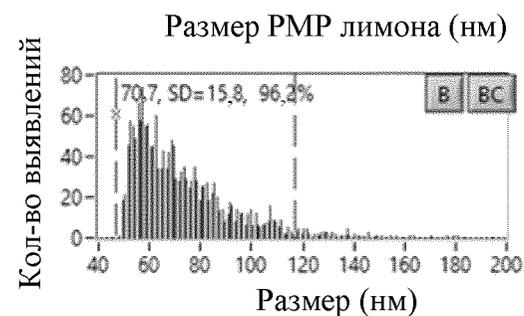
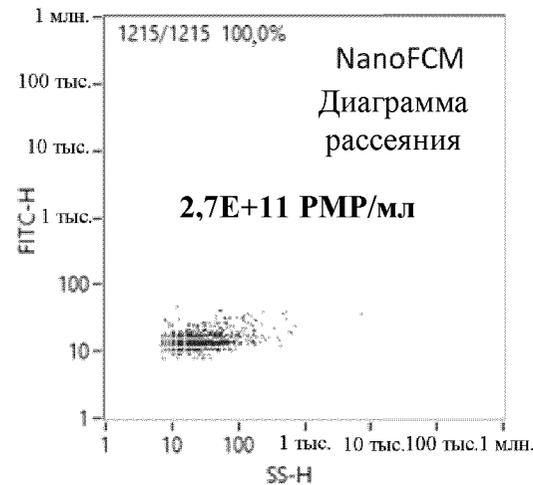
Концентрация РМР грейпфрута в объединенных фракциях после SEC после стерилизации с помощью 0,22 мн фильтров



Медианный размер: 71,9 нм +/- 14,5 нм

Фиг. 5G

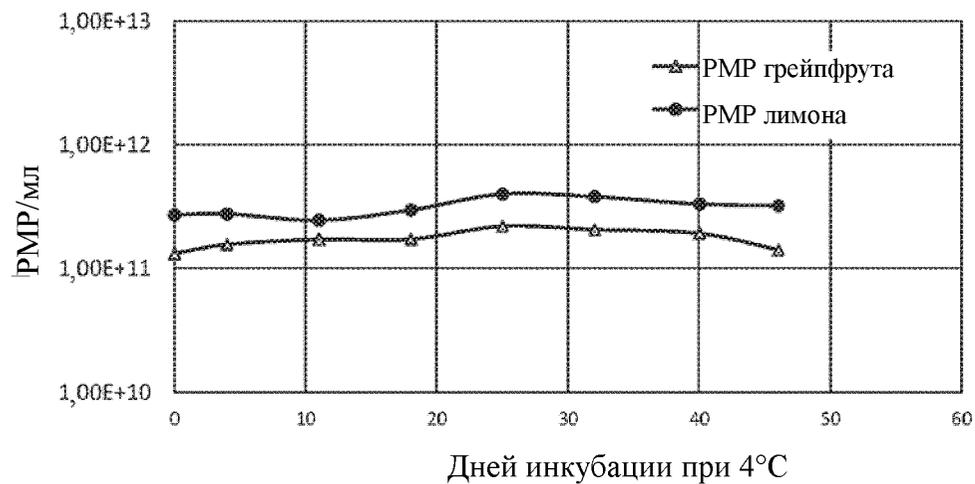
Концентрация РМР лимона в объединенных фракциях после SEC после стерилизации с помощью 0,22 мн фильтров



Медианный размер: 70,7 нм +/- 15,8 нм

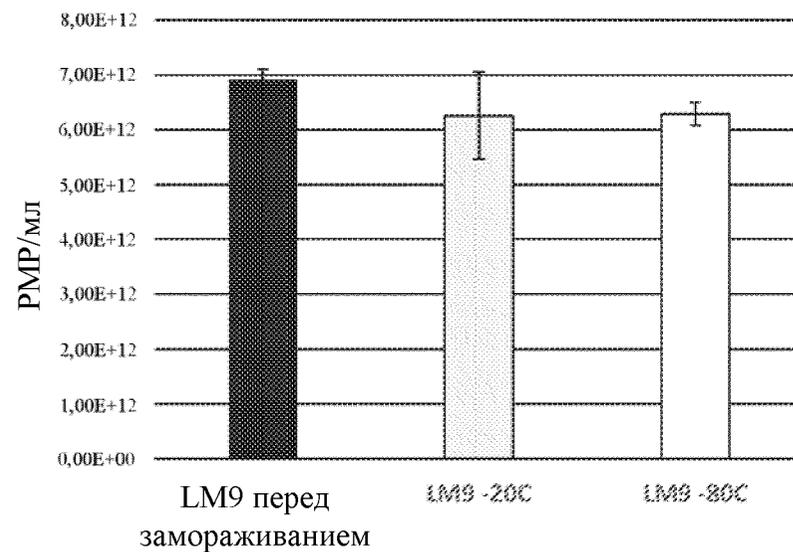
Фиг. 5H

Стабильность РМР при 4°C



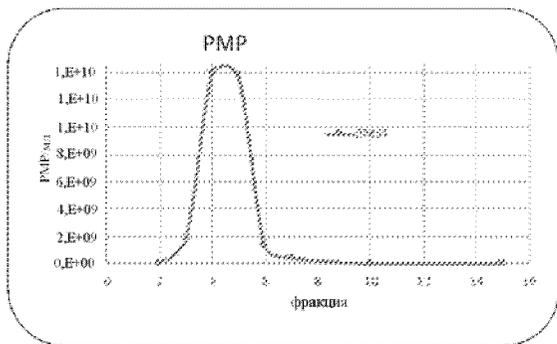
Фиг. 5I

Стабильность РМР при замораживании оттаивании (1 цикл)



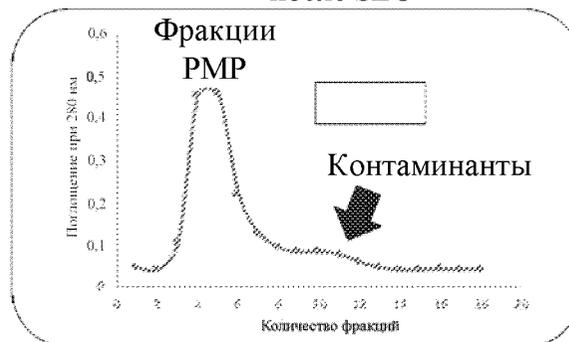
Фиг. 6А

Концентрация частиц в элюированной фракции BMS после SEC (частицы/мл)



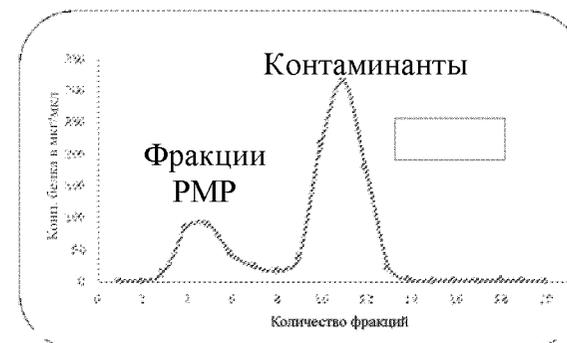
Фиг. 6В

Поглощение при 280 нм (A.U.) элюированными фракциями BMS после SEC



Фиг. 6С

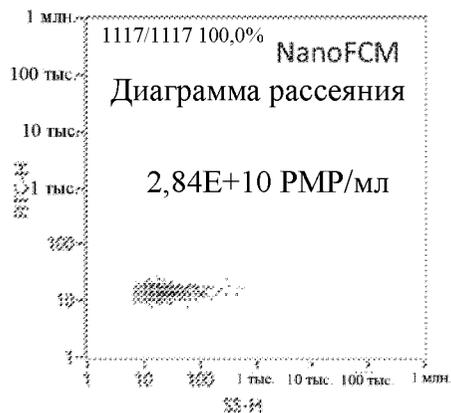
Концентрация белка (мкг/мл) в элюированных фракциях BMS после SEC



12/28

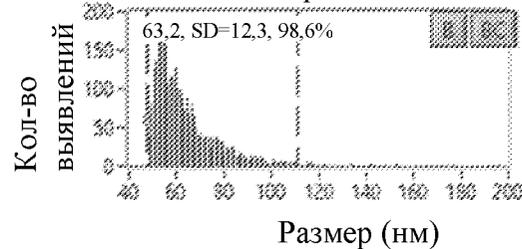
Фиг. 6D

Концентрация PMP BMS в объединенных фракциях после SEC



Фиг. 6E

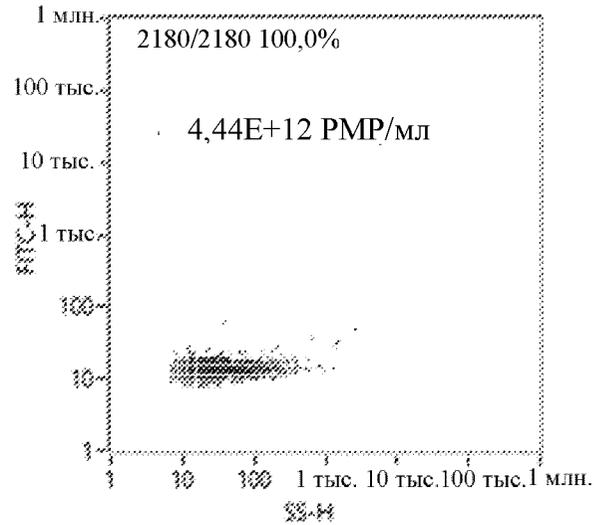
Размер PMP BMS



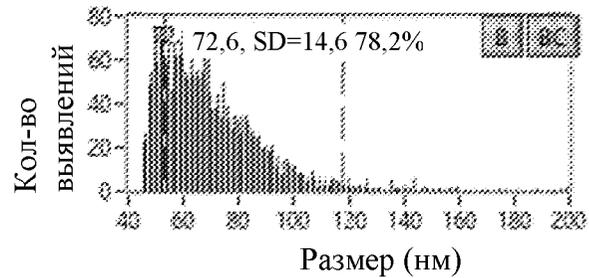
Медианный размер: 63,2 нм +/- 12,3 нм SD

Фиг. 7А

Концентрация DyLight800-РМР грейпфрута



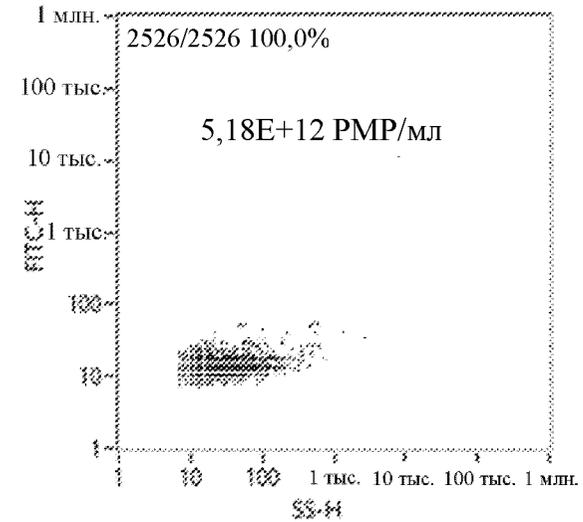
Размер DyLight800-РМР грейпфрута (нм)



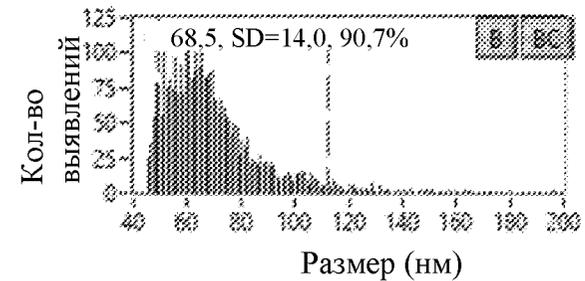
Медианный размер: 72,6 нм +/- 14,6 нм

Фиг. 7В

Концентрация DyLight800-РМР лимона



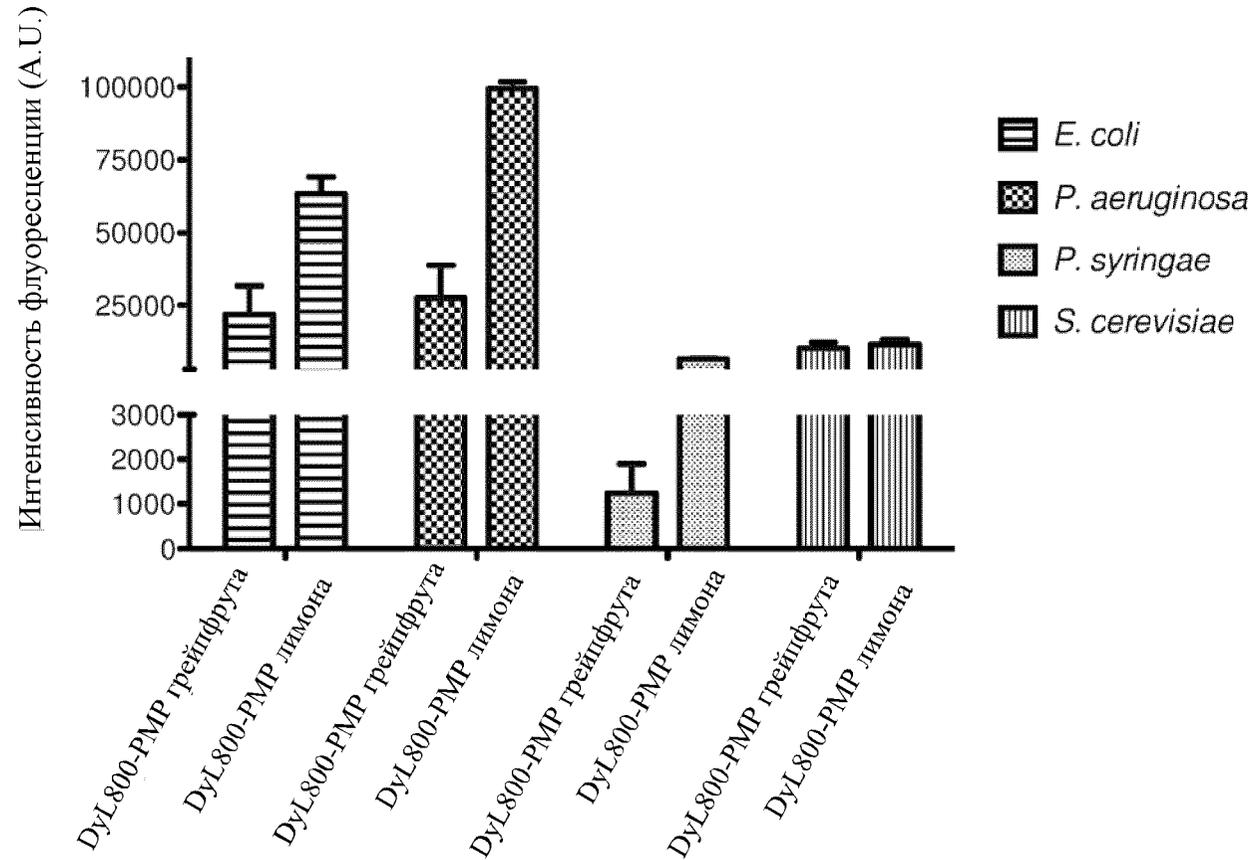
Размер DyLight800-РМР лимона (нм)



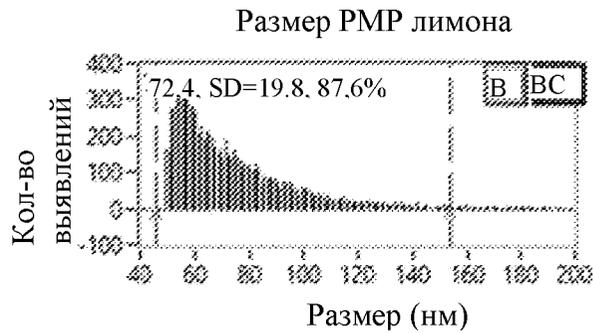
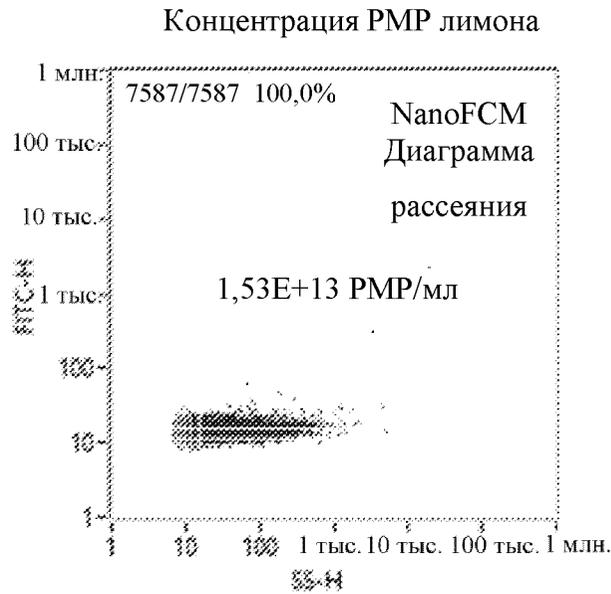
Медианный размер: 68,5 нм +/- 14 нм

Фиг. 7С

Захват полученных из грейпфрута и лимона меченных с помощью DyL800nm PMP бактериями и дрожжами (2 часа после обработки), нормализованный по обработанным только красителем контролям микроорганизмов

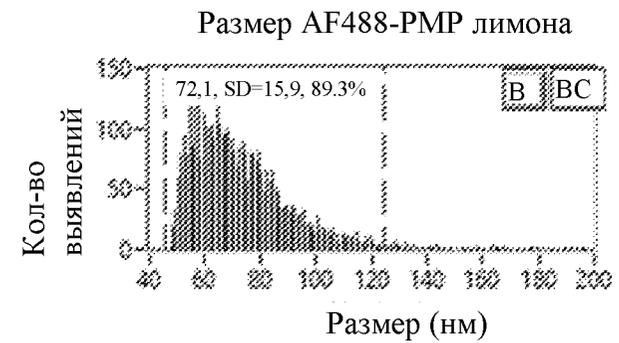
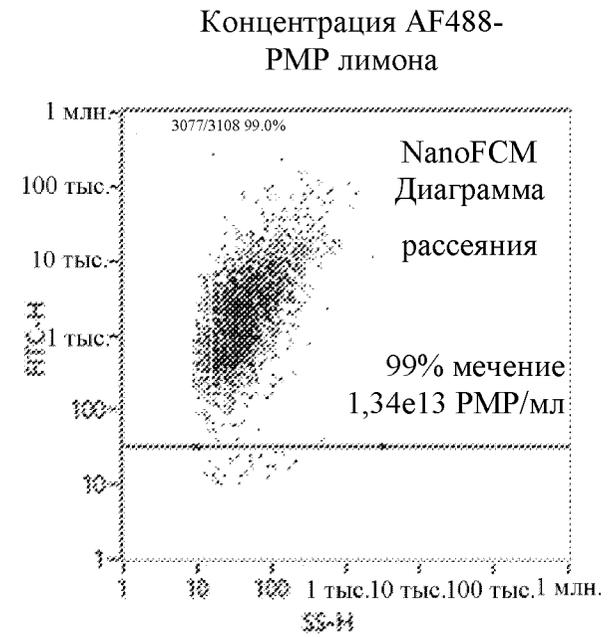


Фиг.8А



Медианный размер: 72,4 нм +/- 19,8 нм SD

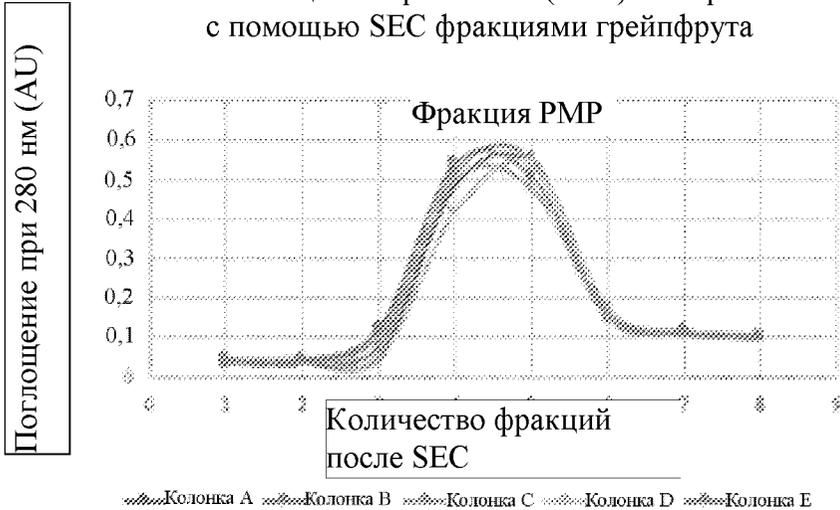
Фиг. 8В



Медианный размер: 72.1 нм +/- 15,9 нм SD

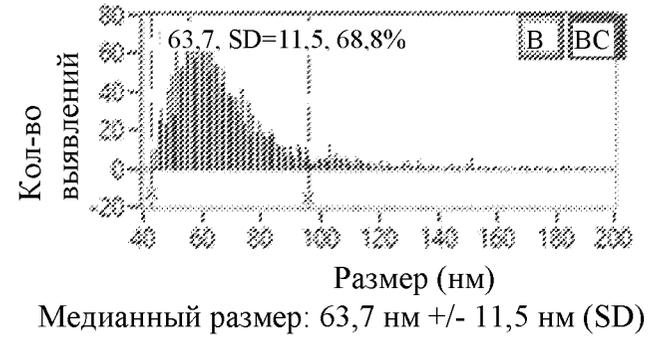
Фиг. 9А

Поглощение при 280 нм (A.U.) элюированными с помощью SEC фракциями грейпфрута



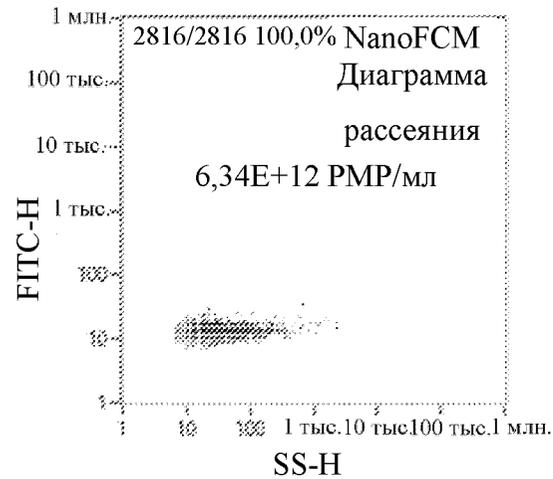
Фиг. 9С

Размер РМР грейпфрута



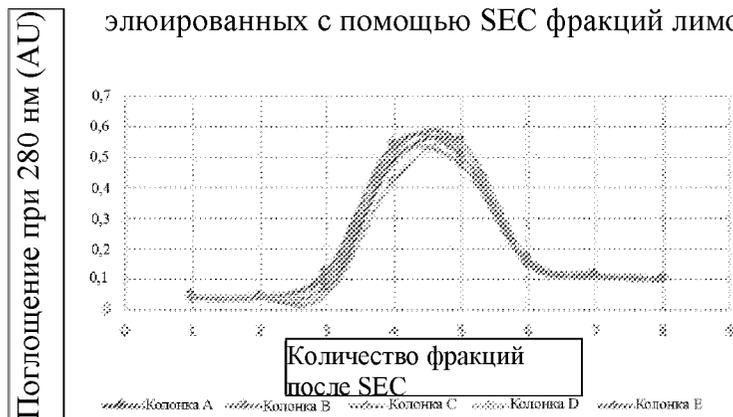
Фиг. 9В

Концентрация РМР грейпфрута из объединенных фракций после SEC



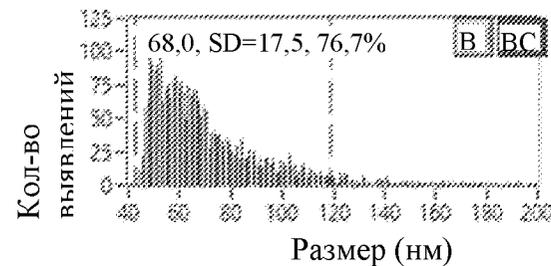
Фиг. 9D

Поглощение при 280 нм (A.U.) для элюированных с помощью SEC фракций лимона



Фиг. 9F

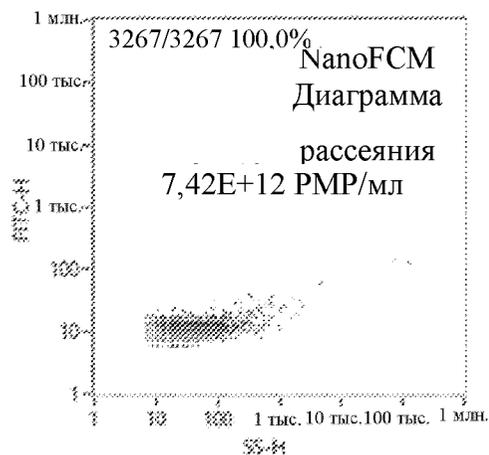
Размер PMP лимона



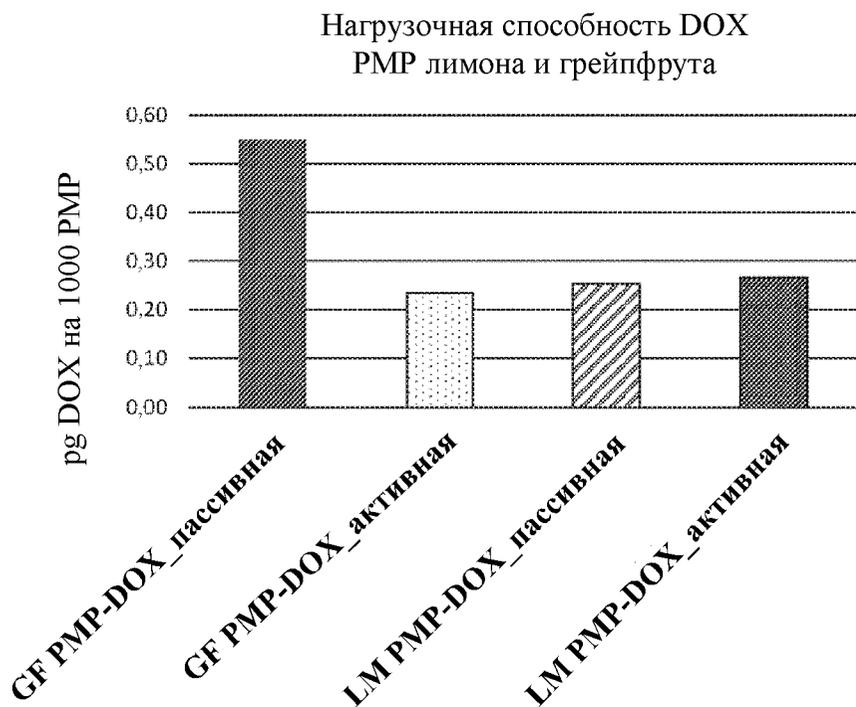
Медианный размер: 68 нм +/- 17,5 нм (SD)

Фиг. 9E

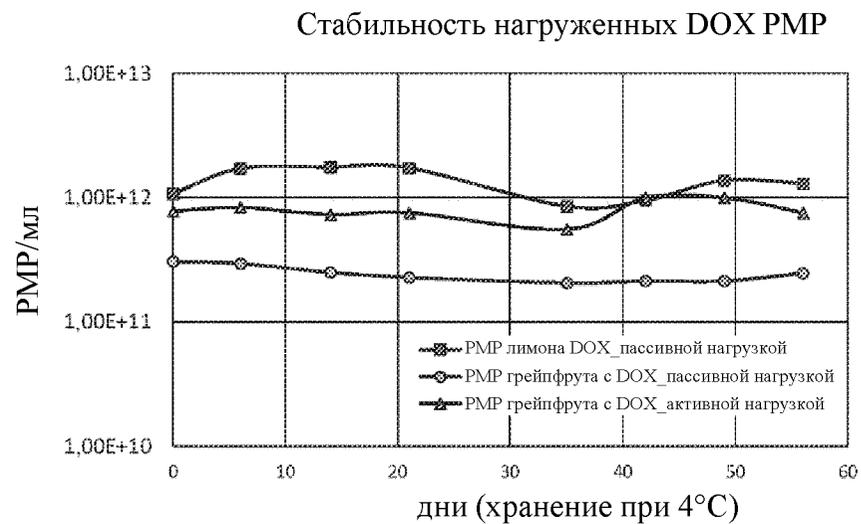
Концентрация PMP лимона из объединенных фракций после SEC



Фиг. 9Г



Фиг. 9Н

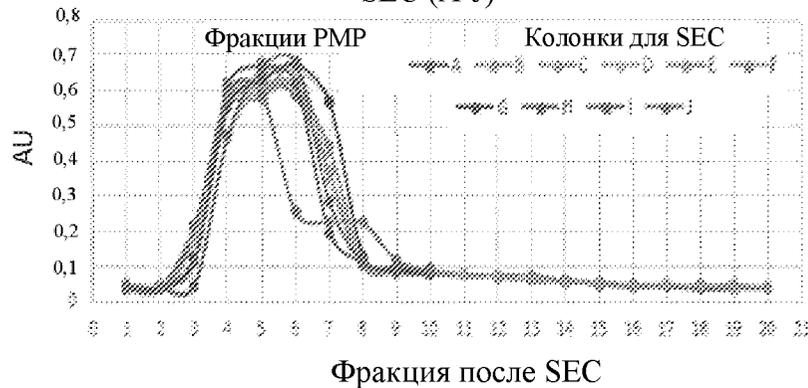


Фиг. 10А



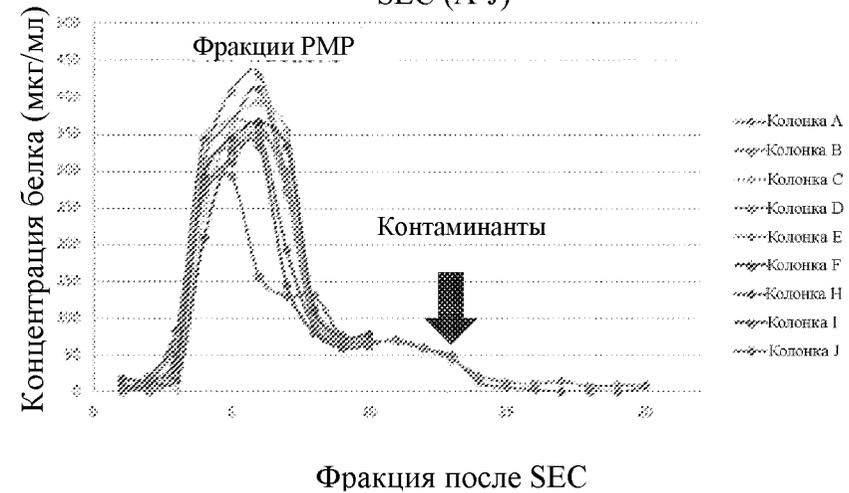
Фиг. 10В

Поглощение при 280 нм (A.U.) элюированных с помощью SEC фракций 9 различных колонок для SEC (A-J)



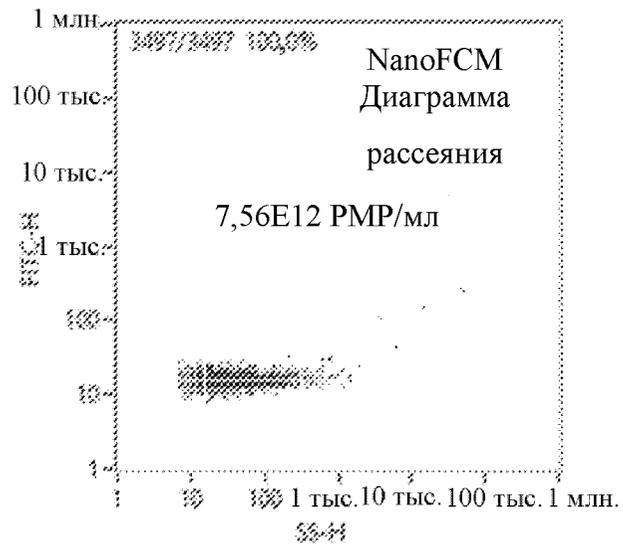
Фиг. 10С

Концентрация белка (мкг/мл) элюированных с помощью SEC фракций 9 различных колонок для SEC (A-J)



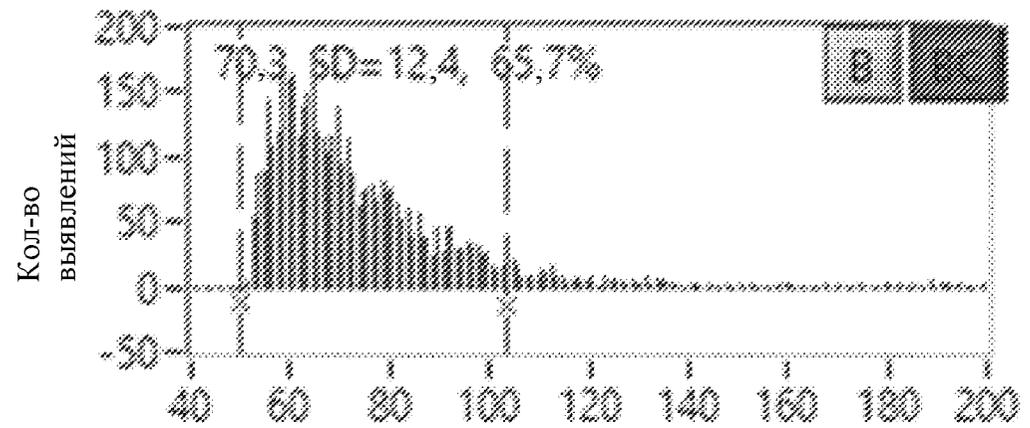
Фиг. 10D

Концентрация РМР в
объединенных фракциях после SEC



Фиг. 10E

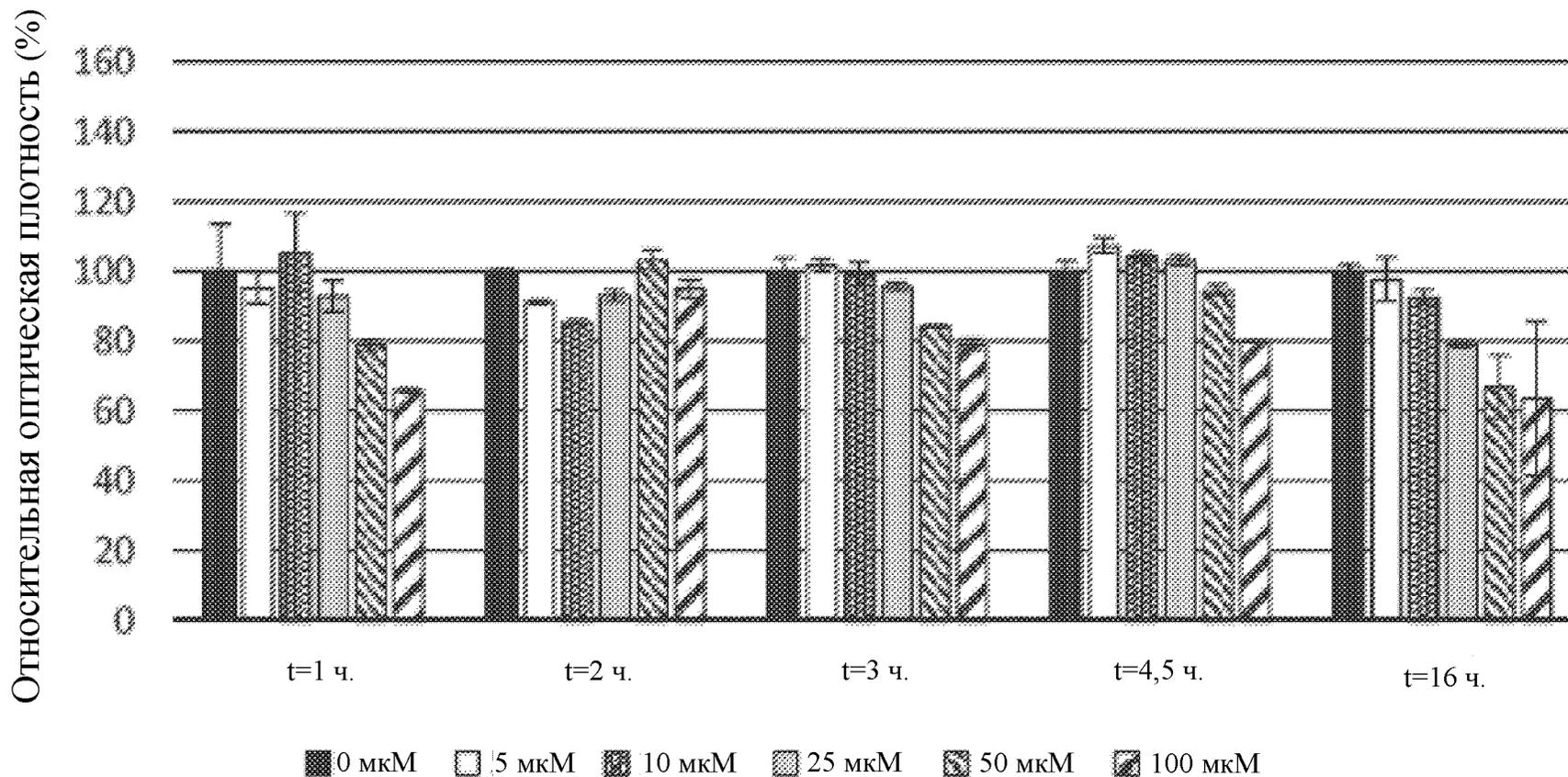
Размер РМР в объединенных фракциях после SEC



Медианный размер: 70,3 нм +/- 12,4 нм (SD)

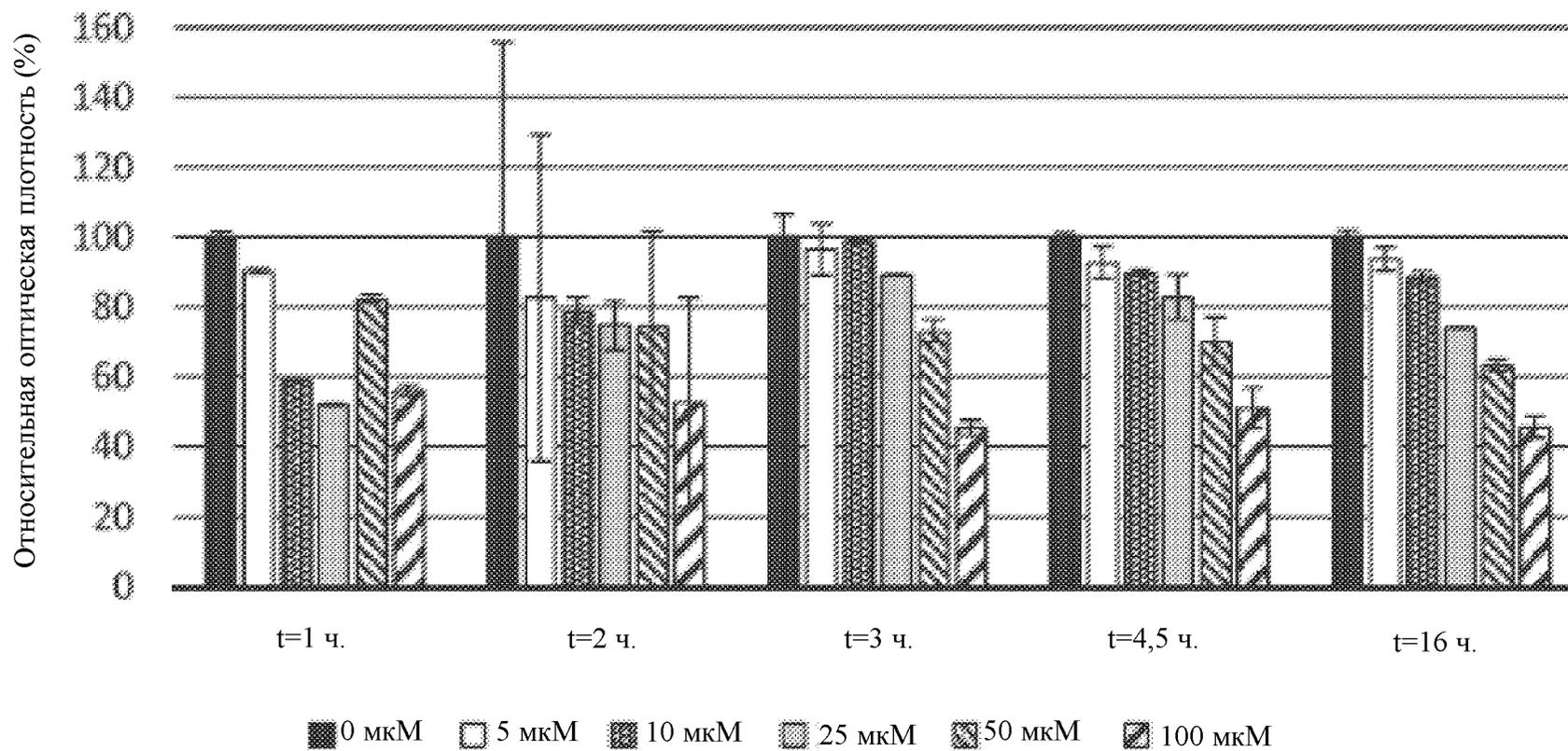
Фиг. 10F

Обработка *P. aeruginosa* нагруженными доксорубицином (DOX)
РМР грейпфрута



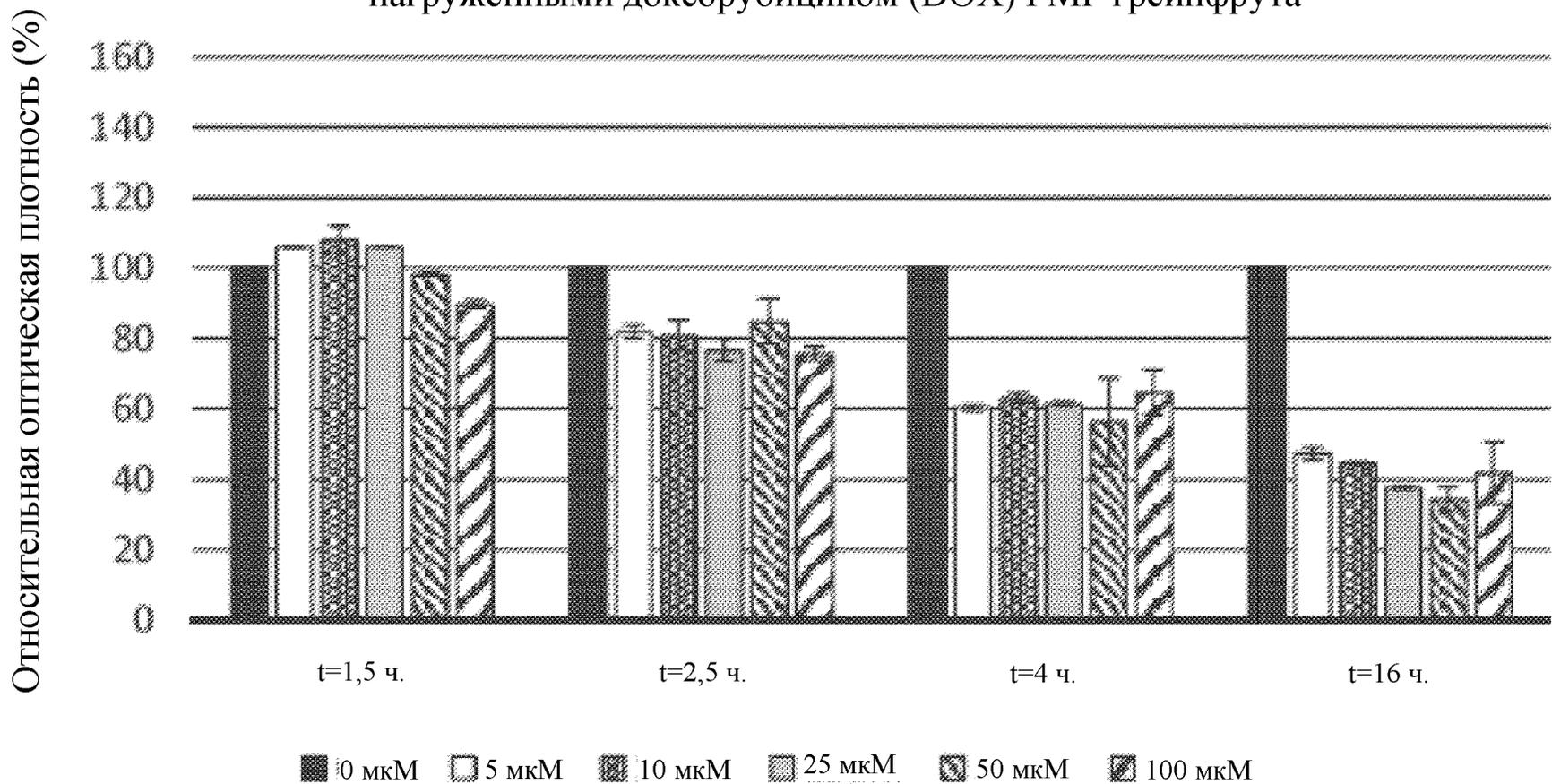
Фиг. 10G

Обработка *E. coli*
нагруженными доксорубицином (DOX) РМР грейпфрута



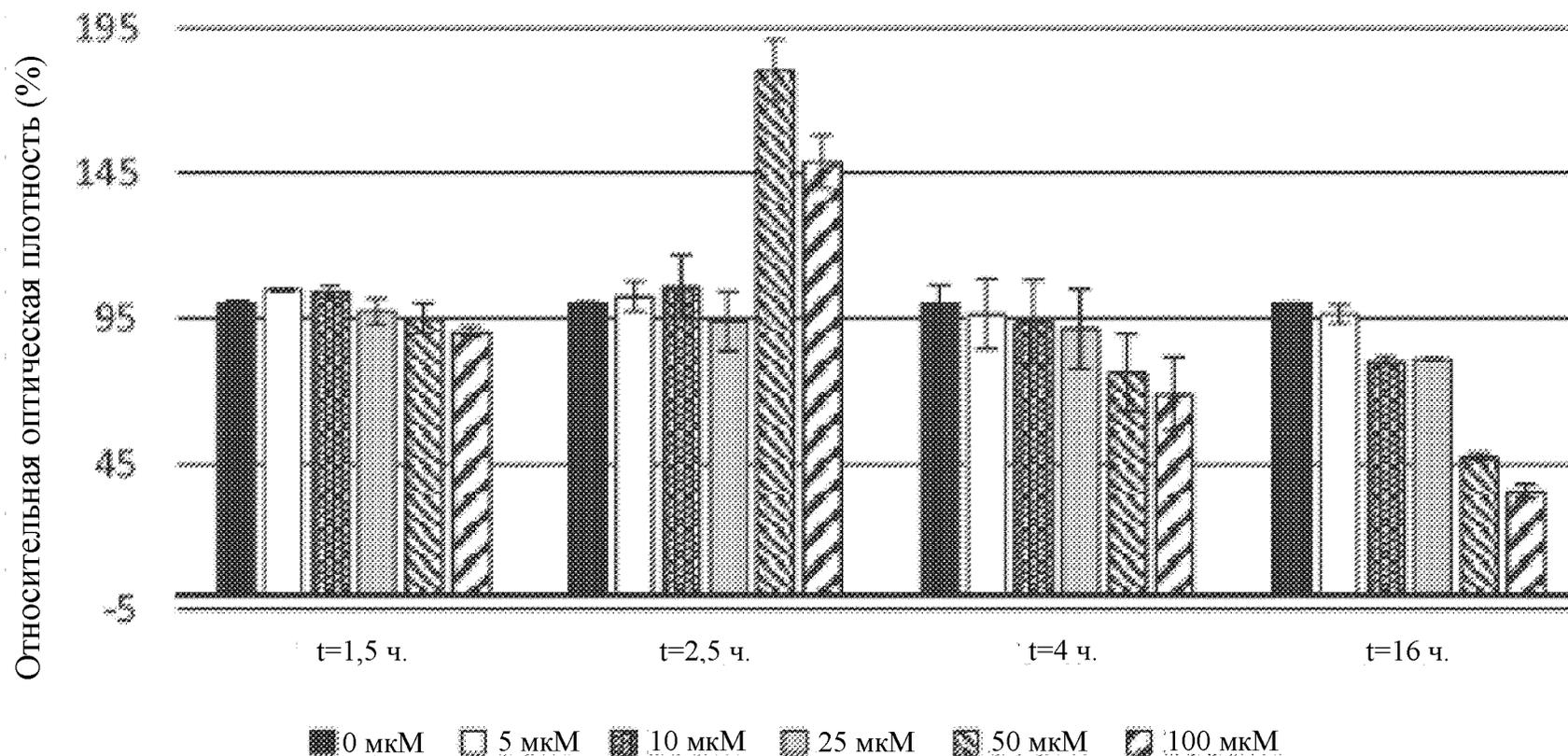
Фиг. 10Н

Обработка *S. cerevisiae*
нагруженными доксорубицином (DOX) РМР грейпфрута

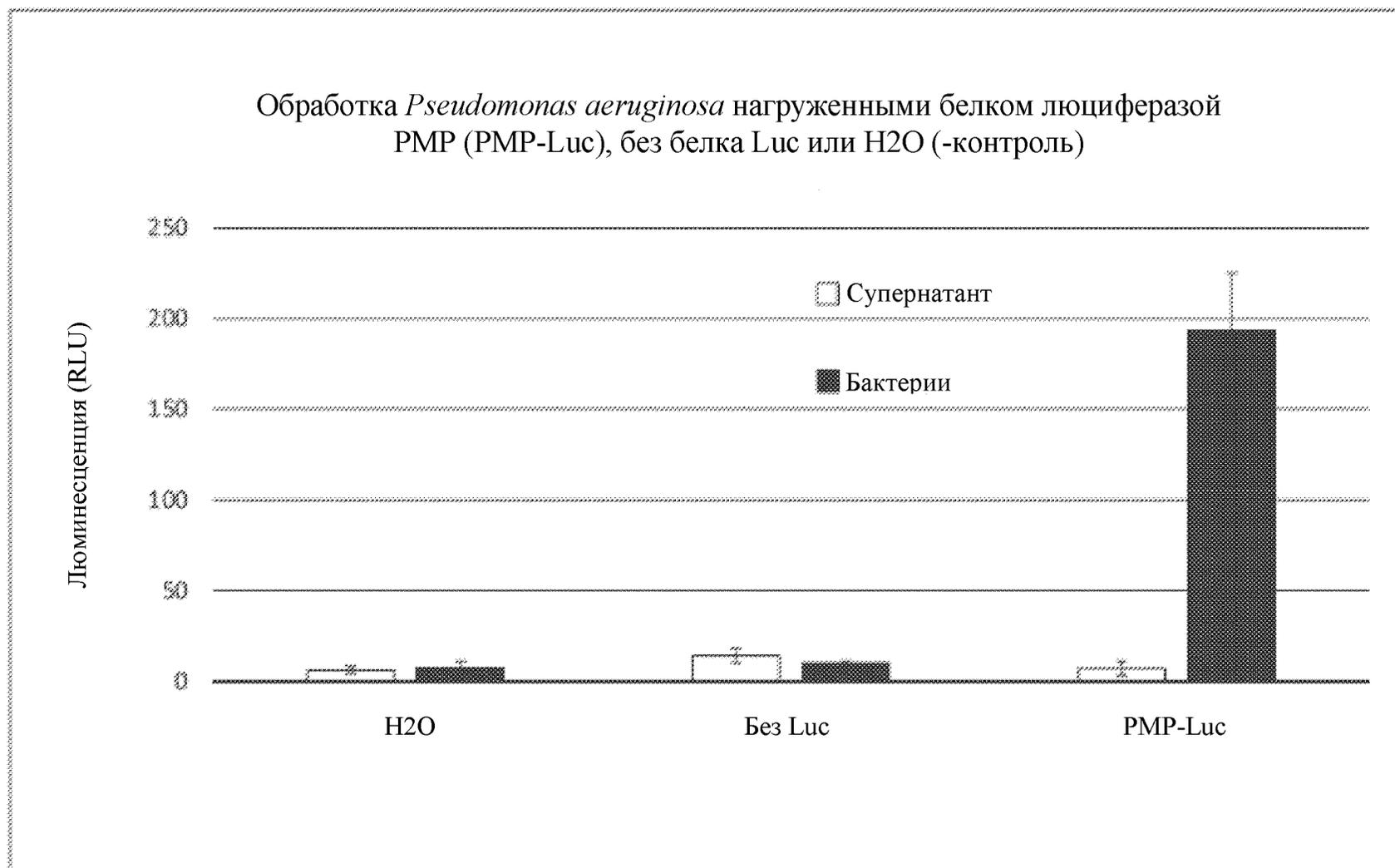


Фиг. 10I

Обработка *P. syringae*
нагруженными доксорубицином (DOX) РМР грейпфрута

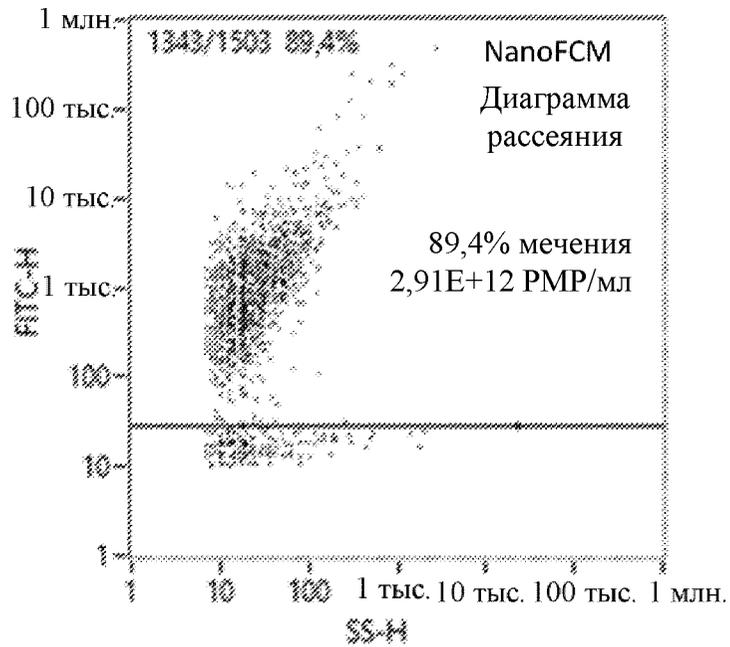


Фиг. 11

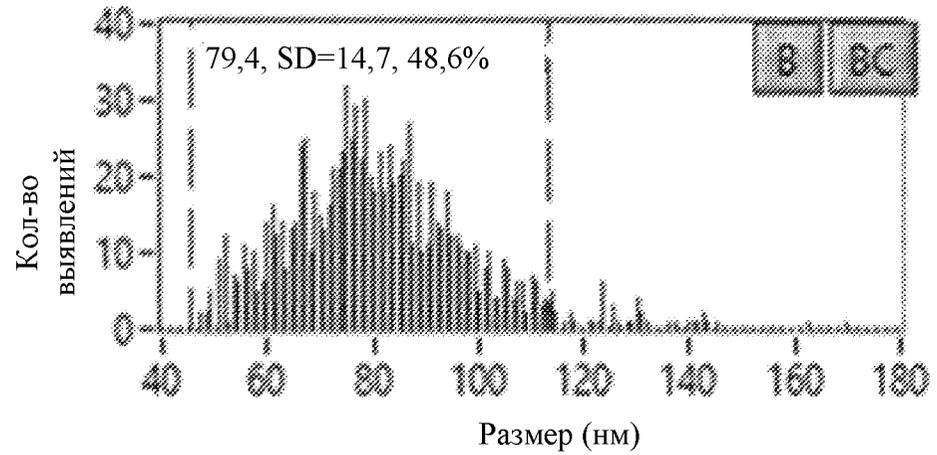


Фиг. 12А

Концентрация AF488-РМР
лимона

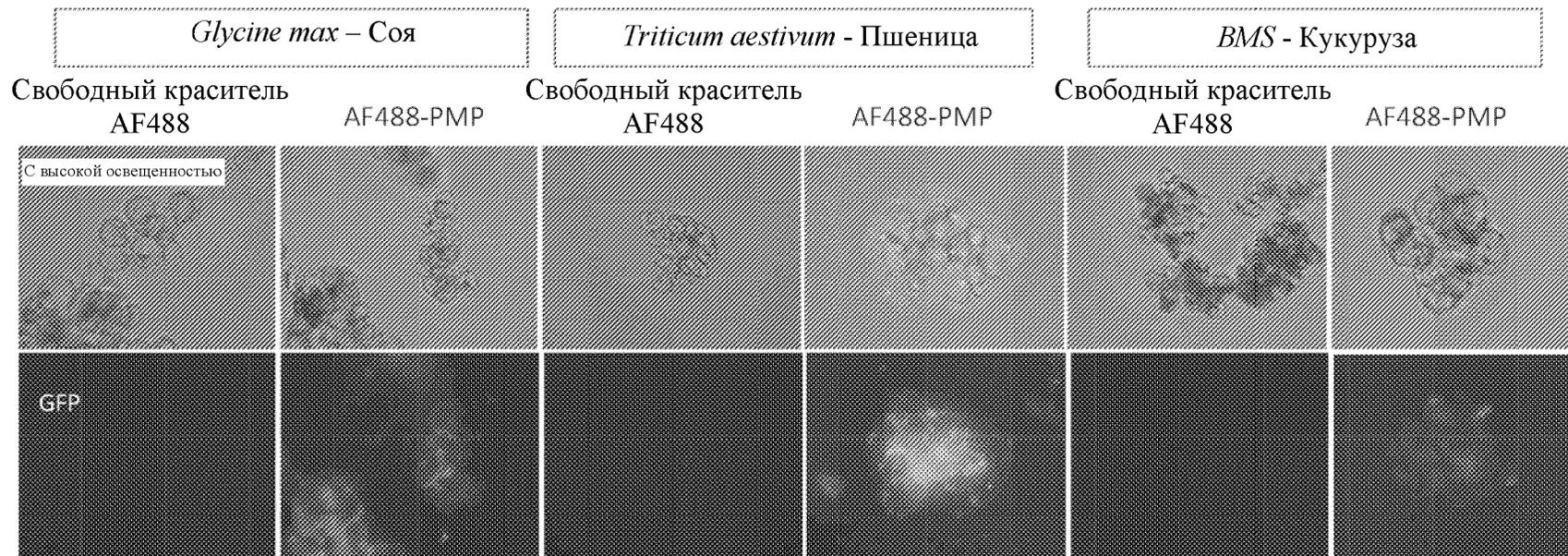


Размер AF488-РМР лимона



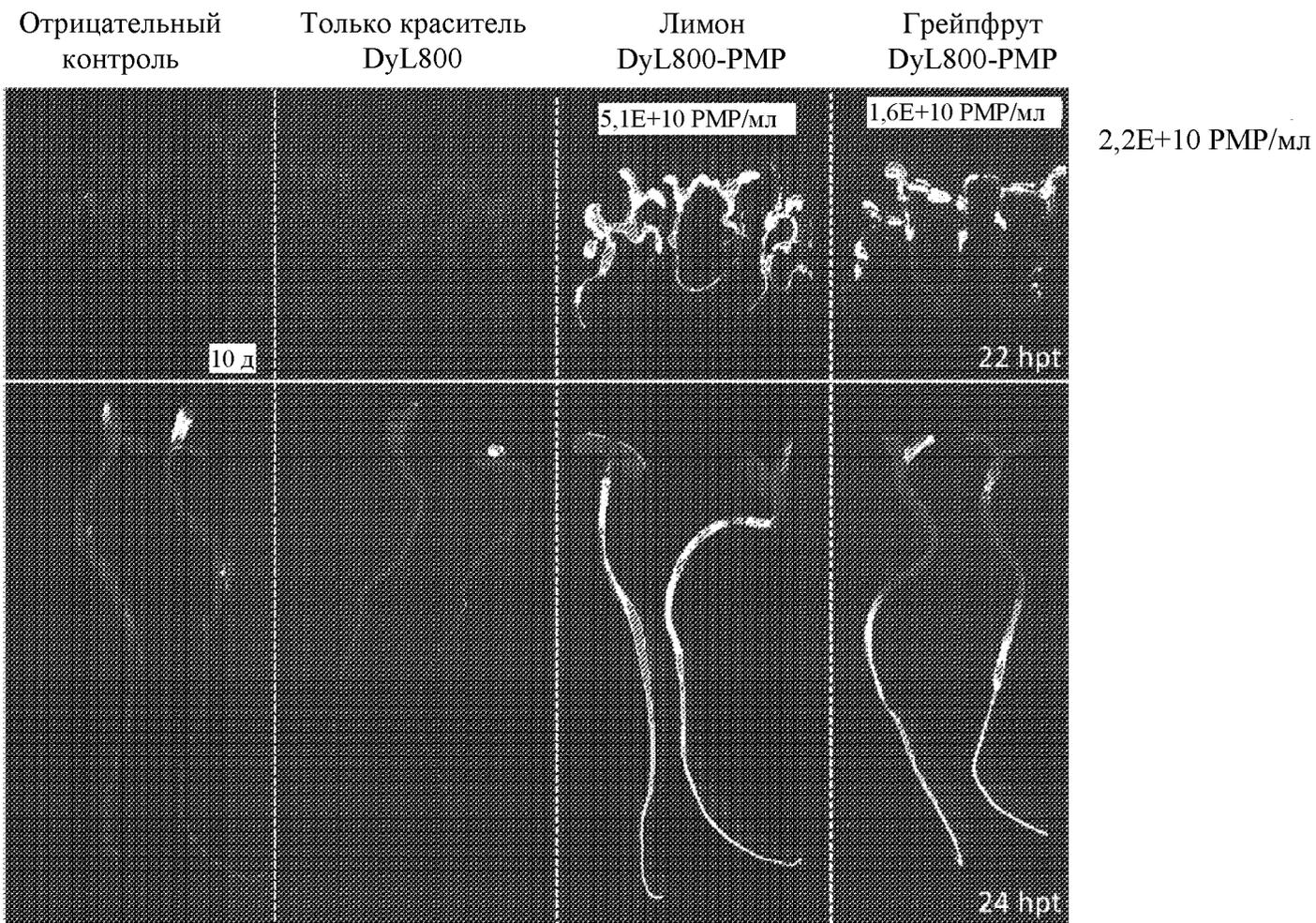
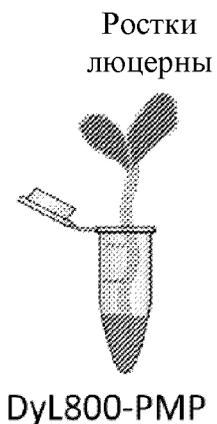
Медианный размер: 79,4 нм +/- 14,7 нм

Фиг. 12В



1E+12 AF488-РМР/мл (лимон)
Evos FLAuto2, 40×

Фиг. 13



Тепловизор Licor Odyssey
hpt=часов после обработки