



УКРАЇНА

(19) UA (11) 36648 (13) A

(51) 7 A01N63/00, C12N1/20

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА ВИНАХІДвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту(54) ШТАМ *PSEUDOMONAS FLUORESCENS* 1321 - СТИМУЛЯТОР РОСТУ І РОЗВИТКУ РОСЛИН

(21) 2000010327

(22) 20.01.2000

(24) 16.04.2001

(33) UA

(46) 16.04.2001, Бюл. № 3, 2001 р.

(72) Поважна Тамара Миколаївна, Янішевська Га-

лина Сигизмундівна, Бучацький Леонід Петрович

(73) Київський національний університет ім. Тара-

са Шевченка

(57) Штам *Pseudomonas fluorescens* 1321 - стиму-

лятор росту і розвитку рослин, ДНКІБШМ, № 102.

Винахід стосується проблеми пошуку штамів бактерій, здатних стимулювати ріст та розвиток рослин, посилювати їх імунітет до патогенної мікрофлори і, як результат, підвищувати врожайність і може бути використаний в сільському господарстві.

Відомий штам бактерій *P. aureofaciens* H-16 для передпосівної обробки насіння зернових та зернобобових культур замість хімічних препаратів аналогічного призначення. При попаданні цих бактерій на насіння відбувається утворення симбіозу з комплексом корисних ознак: підвищення імунітету рослин до патогенної мікрофлори, стимуляція росту коріння і стебла рослин (Матеріали міжнародної конференції "Производство и применение биологических средств защиты растений от вредителей и болезней". - 1994, 87).

Недоліком даного штаму є відносно високі концентрації бактерій, рекомендовані для досягнення позитивних результатів.

Найбільш близьким за досягнутим позитивним ефектом є штам *Pseudomonas* sp. AP 33, вибраний нами за прототип (а. с. 1464468 А 01 N 63/00, 1996). Штам пригнічує фітопатогени зернових, технічних та овочевих культур при обробці насіння та розсади, підвищуючи урожайність культур на 10-20%.

Недоліком цього штаму є його досить вузька спрямованість корисної дії, а саме, штам *Pseudomonas* sp. AP 33 є антагоністом збудника кореневої гнилі злакових рослин - фітопатогенного гриба *Helminthosporium sativum*.

В основу винаходу поставлено завдання знайти штам - активний стимулятор росту і розвитку рослин, позбавлений недоліків прототипу, тобто з більш широким спектром дії.

Технічний результат полягає в підсиленій дії штаму на проростання насіння, колонізації та стимулюванні росту кореневої системи і розвитку стебел.

Таким вимогам відповідає штам *P. fluorescens* 1321, виділений з личинок кровососних комарів *Culex pipiens pipiens*, зібраних в природних водоймищах на узліссі біля с. Круглик Київської області. Отриманий штам *P. fluorescens* задепонований в Національному центрі мікроорганізмів при Державному науково-контрольному інституті біотехнології і штамів мікроорганізмів під № 102. Штам зберігається в колекції мікроорганізмів лабораторії екології та токсикології Київського університету ім. Тараса Шевченка. Отриманий штам має такі культурально-морфологічні та фізіологічні характеристики.

Культурально-морфологічні ознаки.

Клітини - Г - неспорові палички, 0,5-0,7x1,0-3,0 мкм, рухомі.

На м'ясо-пептонному агарі (МПА) колонії круглі, блискучі, гладенькі, з опуклим центром, сіруваті, з жовто-зеленим флуоресціюючим екзопігментом.

При рості на м'ясо-пептонному бульйоні (МПБ) культура утворює плівку, кільце не утворює, утворює рихлий пухкий осад.

Фізіолого-біохімічні ознаки.

Облігатний аероб. Оптимальна температура росту 28°C. Не росте при температурі 42°, росте при 4° і 37°.

Желатин розріджує.

Не окислює глюкозу в анаеробних умовах, нездатен до денітрифікації. Розкладає пептон до NH<sub>3</sub>, виділяє H<sub>2</sub>S, індол не утворює. Як джерело вуглецю використовує глюкозу, сахарозу, лактозу, манніт, саліцин; азот утилізує у вигляді солей амонію та нітратів. Має желатинази, оксидазу за Ковачем, лецитинази, нуклеази, гемолізін; амілази відсутні.

Чутливий до гентаміцину, стрептоміцину, поліміксину, ерітроміцину (10, 30, 30, 15 мкг/мл відповідно).

(19) UA (11) 36648 (13) A

Вивчені і підтверджені антагоністичні властивості у відношенні фітопатогенних бактерій *Pseudomonas* і *Erwinia*, а також деяких фітопатогенних грибів (*Fusarium*).

Штам патогенний для личинок комарів *Aedes*, *Anopheles*, *Culex* і непатогенний до корисних комах - бджіл, тутового шовкопряду, а також до теплокровних - піддослідних білих мишей.

Добре росте на звичайних органічних та мінеральних середовищах (МЛА, КА, Омелянського, Козера та ін.) при температурі 28° в стаціонарних умовах та на качалці (рН 7,0).

Штам ідентифікований за Визначником Бергі (1974) як штам *Pseudomonas fluorescens*.

Суть винаходу пояснюється таким конкретним прикладом використання штаму *P. fluorescens* 1321.

Для інокулювання зерна використовували біомасу клітин штаму 1321, отриману при вирощуванні бактерій на твердих поживних середовищах - картопляному агарі або на агарі з дріжджовим автолізатом при 28°C протягом 24-72 годин.

Бактеріальні клітини змивали з поверхні твердих поживних середовищ стерильною водою або ж фізіологічним розчином і готували суспензії за стандартом мутності (еталон 10).

Бактеризацію зерна озимої пшениці "Миронівська 808", "Донська напівкарликова", ячменю "Дружба", вівса "Скакун" та насіння редису "Червоний з білим кінчиком" проводили шляхом замочування в суспензії бактеріальних клітин (концентрація  $10^5$ - $10^7$ ) на 2-4 години, після чого висівали їх у ґрунт.

За результатами дослідів, така обробка зерна бактеріальними суспензіями була достатньою для ефективної колонізації кореневої системи при проростанні зерна у ґрунті. Для польових дослідів можна рекомендувати обробку зерна з розрахунку - 1 л висхідної суспензії ( $10^9$ ) на 100 кг зерна.

Частина зерен сіяли в ґрунт без передпосівної обробки з наступною вегетативною підкормкою рослин суспензіями бактеріальних клітин ( $10^5$ - $10^7$ ).

Протягом вегетаційного періоду проводили догляд за розвитком рослин. По завершенні експе-

рименту рослини обережно витягали з ґрунту, намагаючись не пошкодити кореневу систему. Відокремлювали зелену частину від кореневої, визначали їх довжину та вагу, а після висушування - вагу сухої біомаси.

Найкращі результати були отримані в дослідях з вивчення впливу бактерій на ріст та розвиток кореневої системи пшениці, ячменю та вівса. Так, збільшення довжини коріння становило від 33% до 78%, їх вага збільшувалася на 36-47%, а приріст кореневої системи ячменю становив 87% порівняно з контролем. Прискорення росту зеленої маси рослин становило 24-26% у пшениці, до 54% - у ячменю (таблиця).

Порівнюючи результати, отримані після передпосівної обробки зерна, і приріст рослин за умов вегетативного підживлення, можна стверджувати однозначно, що бактеризація зерна і насіння набагато перспективніша. Бактеризація зерна стимулювала схожість та розвиток усіх випробуваних рослин. За цієї умови бактерії колонізують кореневу систему рослин, розвиваються на коріннях та в ґрунті, виділяючи в навколишнє середовище продукти свого метаболізму, що сприяє підсиленню імунітету рослин, їх росту і розвитку. Адже бактерії роду *Pseudomonas*, завдяки високому ступеню їх біохімічної активності, є продуцентами багатьох біологічно активних речовин і, як наслідок, виступають антагоністами ґрунтової мікрофлори, серед якої присутні і фітопатогенні організми. Подавляючи їх розвиток, вони тим самим сприяють посиленню життєстійкості рослин.

Таким чином, штам *P. fluorescens* 1321 є активним стимулятором росту і розвитку зернових (пшениці, ячменю, вівса) та овочевої культури - редису. Механізм позитивного ефекту полягає в тому, що при обробці зерна або насіння бактерії здатні виживати і репродукуватися на кореневій системі та в ризосфері рослин, підвищувати завоювання питомих речовин рослинами, пригнічувати або елімінувати фітопатогенні мікроорганізми, а в цілому підвищувати урожайність сільськогосподарських рослин.

Вплив бактерій *P. fluorescens* 1321 на ріст і розвиток рослин

Культура	Зелена частина рослини			Коріння		
	Дослід	Контроль	Збільшення ваги/ довжини, %	Дослід	Контроль	Збільшення ваги/ довжини, %
Пшениця "Миронівська"	<u>0,17</u> 19,4	<u>0,135</u> 18,3	<u>26</u> 5	<u>0,104</u> 11,3	<u>0,077</u> 8,3	<u>36</u> 36
Пшениця "Донська напівкарликова"	<u>0,112</u> -	<u>0,09</u> -	<u>25</u> 13	<u>0,143</u> 12,1	<u>0,104</u> 8,9	<u>38</u> 36
Ячмінь	<u>0,121</u> 26	<u>0,079</u> 20	<u>54</u> 13	<u>0,153</u> 14,1	<u>0,082</u> 7,9	<u>87</u> 78
Овес	<u>0,135</u> -	<u>0,106</u> -	<u>28</u> -	<u>0,124</u> -	<u>0,085</u> -	<u>47</u> -
Редис	<u>0,204</u> 8,5	<u>0,157</u> 5,7	<u>30</u> 49	-	-	-

Примітка: чисельник - вага, г;  
знаменник - довжина, см;  
"-" - не визначали;  
х - збільшення достовірне з вірогідністю  $P=0,05$

---

ДП "Український інститут промислової власності" (Укрпатент)  
Україна, 01133, Київ-133, бульв. Лесі Українки, 26  
(044) 295-81-42, 295-61-97

---

Підписано до друку \_\_\_\_\_ 2001 р. Формат 60x84 1/8.  
Обсяг \_\_\_\_\_ обл.-вид. арк. Тираж 50 прим. Зам. \_\_\_\_\_

---

УкрІНТЕІ, 03680, Київ-39 МСП, вул. Горького, 180.  
(044) 268-25-22

---