



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **57758** (13) **U**
(51) **МПК****A01B 79/02 (2006.01)****A01C 1/02 (2006.01)****C05F 11/08 (2006.01)****C12P 1/04 (2011.01)****C12R 1/07 (2006.01)**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ**ОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**видається під
відповідальність
власника
патенту**(54) МІКРОБІОЛОГІЧНИЙ СПОСІБ БІОРЕМІДІАЦІЇ ЧОРНОЗЕМУ ОПІДЗОЛЕНОГО, ЗАБРУДНЕНОГО ВАЖКИМИ МЕТАЛАМИ**

1

2

(21) u20101010314

(22) 25.08.2010

(24) 10.03.2011

(46) 10.03.2011, Бюл.№ 5, 2011 р.

(72) МАКЛЮК ОЛЕНА ІВАНІВНА

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ НАУКОВИЙ ЦЕНТР "ІНСТИТУТ ҐРУНТОЗНАВСТВА ТА АГРОХІМІЇ ІМЕНІ О.Н.СОКОЛОВСЬКОГО"

(57) Мікробіологічний спосіб біореєдїації чорнозему опідзоленого, забрудненого важкими метала-

ми, який включає передпосівну бактеризацію насіння, використання активних штамів бактерій, який **відрізняється** тим, що як біопрепарат використовують біоагент B531 роду *Bacillus* на тих самих ґрунтах, з яких він був виділений, що підвищує біологічну активність ґрунту, ефективно діє на всі зазначені важкі метали, покращує продуктивність і якість сільськогосподарської продукції в районах з інтенсивним сільськогосподарським використанням земель.

Корисна модель відноситься до галузі сільського господарства, зокрема до агрозаходів, спрямованих на створення умов для підтримки ґрунту у біологічно активному стані і запобіганню зниження рівня продуктивності рослин, вирощуваних на забрудненому важкими металами чорноземі опідзоленому та, в цілому, на покращення екологічного стану ґрунту в районах з інтенсивним сільськогосподарським використанням земель.

Відомо спосіб оздоровлення ґрунту та запобігання негативного впливу важких металів на його біологічну активність і продуктивність сільськогосподарських культур шляхом вирощування певних видів рослин, які здатні накопичувати іони важких металів у фітомасі (фітореєдїація). Але у разі застосування зазначеного способу біомасу рослин з накопиченими важкими металами використовують лише після довготривалих (до 8 років) та економічно витратних агротехнічних заходів або захоронюють чи спалюють, що надає побічного негативного ефекту від цього заходу. [Пат. RU № 2359444 A01B79/02 Фитореєдїационный способ очистки почв от тяжелых металлов].

Відомо інший спосіб оздоровлення ґрунту - мікробна реабілітація шляхом використання спеціально селекціонованих культур мікроорганізмів, які здатні специфічно інактивувати певний забруднювач. Шляхом передпосівної бактеризації такими штамми насіння сільськогосподарських культур

відновлюється біологічна активність ґрунту та продуктивність самих сільськогосподарських культур. [Пат. RU № 2292392 C12N1/20, C02F3/34, B09C1/10, C12R1/40 Штам бактерій *Pseudomonas alcaligenes*, используемый для очистки почв, грунтовых и поверхностных вод от тринитротолуола]. Цей спосіб потребує отримання для кожного типу забруднювача відповідний штам-інактиватор. Тому для земель з інтенсивним сільськогосподарським використанням, де одним із основних забруднень орного шару ґрунту є важкі метали, джерелом яких слугують мінеральні добрива, пестициди та інші хімічні препарати, необхідні штами мікроорганізмів, здатних до інактивації саме важких металів, до того ж бажано з широким спектром дії.

Найбільш близьким до заявленого є спосіб застосування селекціонованих штамів бактерії *Bacillus subtilis* 11В, який володіє широким спектром антагоністичної активності до фітопатогенних бактерій і грибів, що домінують у забруднених ґрунтах, і збільшує схожість насіння злакових рослин, вирощуваних за умов забруднення важкими металами [Пат. R.U № 2354690 C12N1/20, A01C1/02, C12R1/125 Средство для повышения всхожести семян злаковых растений в почвах, загрязненных тяжелыми металлами]. До того ж відомо, що бактерії роду *Bacillus* проявляють високу стійкість до завищеного вмісту у ґрунті цинку, міді, ртуті, бору, фосфору, заліза. При цьому слід враховувати, що

(13) **U**(11) **57758**(19) **UA**

штами мікроорганізмів, які отримані з ценозів певних ґрунтово-кліматичних умов, при їх інтродукції в інші типи ґрунтів не в повній мірі розкривають свій потенціал з позитивного впливу на біологічні властивості ґрунтів. Тому необхідно отримання нових штамів роду *Bacillus*, адаптованих до тих ґрунтово-кліматичних умов, з яких вони були виділені.

В основу корисної моделі поставлена задача удосконалення способу біоремедіації чорнозему опідзоленого, за рахунок штучного збагачення чистими культурами мікроорганізмів, стійкими до широкого спектру важких металів, які виділені на тих самих ґрунтах, де вони використовуються, що сприяє активізації аборигенної ґрунтової мікрофлори та збільшує врожай сільськогосподарських культур, підвищує її якість та поліпшує екологічний стан навколишнього середовища.

Задача вирішується тим, що у відомому мікробіологічному способі біоремедіації чорнозему опідзоленого забрудненого важкими металами, який включає передпосівну бактеризацію насіння, використання активних штамів бактерій згідно з винахідницьким задумом в якості біопрепарату використовують біоагент B531 роду *Bacillus* на тих самих ґрунтах, з яких вони були виділені, що підвищує біологічну активність ґрунту, ефективно діє на всі зазначені важкі метали, покращує продуктивність і якість сільськогосподарської продукції в районах з інтенсивним сільськогосподарським використанням земель.

Розроблений спосіб біоремедіації чорнозему опідзоленого шляхом інтродукції в нього високоактивного рістстимулюючого штаму *Bacillus* sp. B531 в якості біодобрива, який за активною рістстимулюючою властивістю та високою резистентністю до важких металів Cd, Pb, Ni, Zn позитивно впливає на покращення екологічного стану ґрунту, продуктивність і якість сільськогосподарської продукції в районах з інтенсивним сільськогосподарським використанням земель. Новий штам *Bacillus* sp. B531 отримано методом аналітичної селекції за принципом відбору природних ізолятів, які володіють високою рістстимулюючою активністю. Вста-

новлення рістстимулюючої активності виявлено при проведенні біопроб на проростках кукурудзи та ряду інших сільськогосподарських культур за методом О.А. Берестецького (1982) та за методичними рекомендаціями «Некоторые новые методы количественного учета почвенных микроорганизмов и изучения их свойств» (Ленинград, 1982).

Штам *Bacillus* sp. B531 зберігається у колекції ґрунтових бактерій роду *Bacillus* в ННЦ ІГА.

Ефективність інтродукції у забруднений ґрунт - чорнозем опідзолений - нового штаму *Bacillus* sp. B531 була встановлена за показниками біологічної активності ґрунту та за даними продуктивності рослин ячменю ярого у довгострокових стаціонарних модельних дослідах на чорноземі опідзоленому, забрудненому важкими металами Cd (5 мг/кг), Pb (10 мг/кг), Ni (250 мг/кг), Zn (250 мг/кг). Дані щодо впливу інтродукції штамів бацил в прикореневу зону ячменю ярого на показники біологічної (ферментативної) активності чорнозему опідзоленого наведено у таблиці 1. Ефективність запропонованого способу позначилася й на формуванні продуктивності рослин ярого ячменю, що за показниками біомаси рослин та маси зерна представлено на Фіг.1, при цьому значно знижено вміст важких металів у зерні рослин, вирощуваних на забрудненому ґрунті (табл.2).

Таким чином, польові випробування підтвердили високу ефективність нового біоагенту *Bacillus* sp. B531, який можна характеризувати як біоагент з біоремедіації чорнозему опідзоленого, забрудненого важкими металами. А запропонований спосіб оздоровлення ґрунту шляхом інтродукції штаму у притаманну йому екологічну нішу дає можливість активізувати природний біологічний потенціал ґрунту та на фоні зниження негативного впливу важких металів поліпшити його екологічний стан на фоні збільшення урожаю рослин та покращення якості зерна. Позитивний вплив активного штаму бактерій роду *Bacillus* на біологічний стан чорнозему опідзоленого за розрахунковим інтегральним показником (ІПБС) у польовому досліді на Коротичанському дослідному полі представлено на Фіг.2.

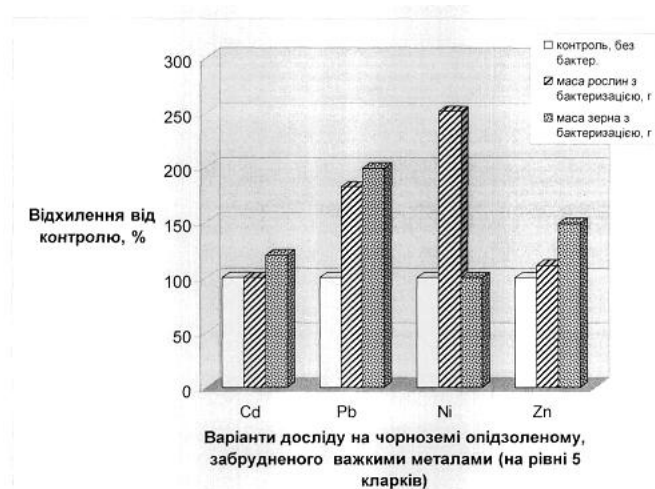
Таблиця 1

Варіанти		Дегідрогеназа, мг ТФФ ¹⁾ в 100 г за 24 години	Інвертаза, мг глюкози в 1 г за 24 години	Поліфенолоксидаза, мг 1,4- п-бензохінона в 10 г за го- дину
Cd	контроль, без бактер.	312,1	7,00	635
	бактер. штамом 531	366,1	8,69	682
Pb	контроль, без бактер.	84,24	5,10	674
	бактер. штамом 531	246,7	8,74	1032
Ni	контроль, без бактер.	101,97	2,58	674
	бактер. штамом 531	102,5	8,58	686
Zn	контроль, без бактер.	26,75	2,56	729
	бактер. штамом 531	26,67	6,00	704

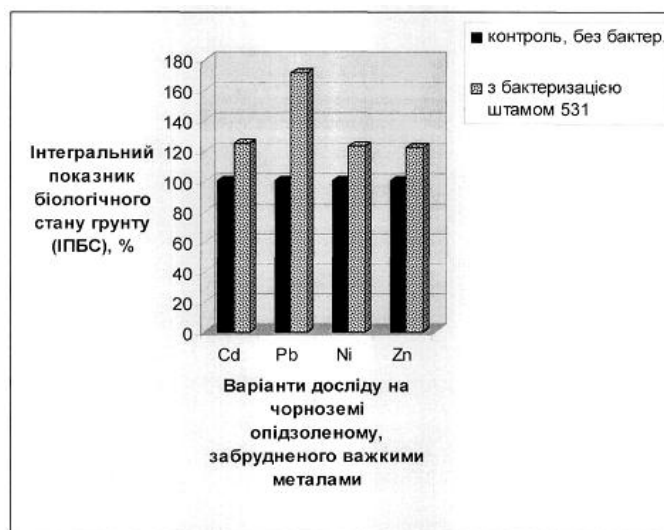
¹⁾ трифенілформазан

Таблиця 2

Варіанти		Вміст Cd у зерні, мг/кг	Вміст Pb у зерні, мг/кг	Вміст Ni у зерні, мг/кг	Вміст Zn у зерні, мг/кг
Cd	контроль, без бактер.	0,42			
	бактер. штамом 531	0,18			
Pb	контроль, без бактер.		1,64		
	бактер. штамом 531		0,64		
Ni	контроль, без бактер.			5,39	
	бактер. штамом 531			0,48	
Zn	контроль, без бактер.				38,21
	бактер. штамом 531				23,29



Фіг. 1



Фіг. 2