



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **102763** (13) **U**
(51) МПК (2015.01)
A01N 25/00
A01P 21/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

| | |
|---|---|
| (21) Номер заявки: u 2015 02020 | (72) Винахідник(и): Коць Сергій Ярославович (UA), Михалків Людмила Миронівна (UA), Береговенко Світлана Кирилівна (UA) |
| (22) Дата подання заявки: 06.03.2015 | |
| (24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 25.11.2015 | (73) Власник(и): ІНСТИТУТ ФІЗІОЛОГІЇ РОСЛИН І ГЕНЕТИКИ НАН УКРАЇНИ, вул. Васильківська, 31/17, м. Київ-22, 03022 (UA) |
| (46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.11.2015, Бюл.№ 22 | |

(54) СПОСІБ ПІДВИЩЕННЯ АЗОТОФІКСУВАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ТА ПРОДУКТИВНОСТІ СИМБІОТИЧНИХ СИСТЕМ ЛЮЦЕРНА-SINORHIZOBIUM MELILOTI

(57) Реферат:

Спосіб підвищення азотофіксувальної активності та продуктивності симбіотичних систем люцерна - *Sinorhizobium meliloti* полягає у застосуванні при вирощуванні люцерни прийому обприскування рослин водним розчином полістимуліну К у концентрації 10^{-4} М у фазу прихованої бутонізації, даний прийом включає використання регулятора росту цитокінінової природи з пролонгованим типом дії, - наявність полімерного носія-матриці забезпечує поступове вивільнення бензиламінопурина (БАП) і, таким чином, подовжує його ефект, при цьому обробка проводиться у критичну для формування генеративних органів фазу розвитку рослин, що забезпечує підвищення урожаю насіння.

UA 102763 U

Корисна модель належить до сільського господарства, а саме технології вирощування бобових, зокрема люцерни, яка є однією з провідних кормових культур в Україні.

Однією з причин зменшення посівних площ люцерни є нестача насіння, обумовлена тим, що у виробничих умовах потенціал насінників цієї культури реалізується лише на 25-30 % [Коць С.Я., Михалків Л.М. Фізіологія симбіозу та азотне живлення люцерни. - К.: Логос, 2005. - 300 с.]. Суттєвим чинником, що призводить до зниження насінневої продуктивності люцерни, є недостатнє водозабезпечення. Тому розробка способів оптимізації врожайності цієї культури за умов недостатньої вологості ґрунту набуває особливої актуальності.

Підвищити стійкість бобових до несприятливих умов довкілля і покращити їхню врожайність дозволяє застосування регуляторів росту, при цьому доцільно враховувати азотофіксувальний потенціал їхніх симбіотичних систем. Встановлено [Биологическая фиксация азота: бобово-ризобиальный симбиоз. Т. 2 / Коць С.Я., Моргун В.В., Патыка В.Ф. и др. - К.: Логос, 2011. - 523 с.], що за сприятливих умов симбіотичні системи люцерни - *Sinorhizobium meliloti* протягом вегетації засвоюють 250-350 кг/га і більше атмосферного азоту, при цьому приріст урожаю зеленої маси та насіння досягає 25-35 %, а збір білка збільшується на 30-50 %. Це диктує необхідність всебічного дослідження функціональних особливостей різних за ефективністю симбіотичних систем при використанні регуляторів росту за різного водозабезпечення.

Відомо спосіб підвищення насінневої продуктивності люцерни [UA50011, опубл. 15.10.2002 р.], який включає формування двох урожаїв цієї культури на рік на одній зрошуваній площі при відсутності використання ґрунтового гербіциду та при використанні біостимулятора фероцин. Недоліком вказаного способу при одержанні насіння є обмеження щодо стиглості сорту.

Відомо також спосіб вирощування насінневих посівів люцерни, який включає обробку посівів засобом для позакореневої обробки [UA2997, опубл. 26.12.1994 р.] на основі борної кислоти та хлорхолінхлориду при наступному співвідношенні компонентів, мас. %: борна кислота - 0,02-0,05, хлорхолінхлорид - 1,5-1,8, вода - решта. Вказаний спосіб базується на інгібуванні загального росту та перерозподілі асимілятів, у результаті чого досягають підвищення насінневої продуктивності. Проте застосування ретардантів, зокрема хлорхолінхлориду, викликає пригнічення розвитку кореневої системи, що обумовлює зниження стійкості рослин люцерни до абіотичних чинників, передусім - до посухи.

Відомо спосіб вирощування люцерни [UA42206, опубл. 25.06.2009 р.], який включає одноразове або дворазове (фазах стеблуння та/або початку бутонізації, відповідно) обприскування рослин розчином регулятора росту і розвитку, основою якого є продукти термофільного метанового бродіння із концентрацією 1,0-1,5 г/л. Проте даний спосіб забезпечує стимуляцію ростових процесів на ранніх етапах розвитку культури, після застосування препарату.

Відомо також, що обприскування люцерни у фазах початку бутонізації та початку цвітіння різними стимуляторами росту, зокрема 6-бензиламінопурином (БАП) (0,03 г/л), на фоні інокуляції ефективними штамми *Sinorhizobium meliloti* сприяє підвищенню урожайності насіння люцерни // Актуальні проблеми фізіології рослин і генетики: Тези доп. VI конф.мол.вчених, присвяч. 50-й річниці з дня заснування ІФРГ НАН України. Київ, 9-11 жовтня, 1996 р. - К.: ІФРГ НАН України, 1996. - С. 31-32].

Даний спосіб вирощування люцерни є прототипом представленої корисної моделі. Він забезпечує підвищення урожаю насіння, проте, зважаючи на залежну від концентрації здатність кінетину як стимулювати, так і пригнічувати азотофіксуючу активність корневих бульбочок, його застосування не завжди забезпечує підвищення насінневої продуктивності люцерни.

Задачею представленої корисної моделі є забезпечення тривалого процесу активної азотофіксації симбіотичною системою люцерни з синоризобіями з метою поліпшення азотного живлення рослин у період формування генеративних органів і підвищення насінневої продуктивності рослин за посушливих умов. Це досягається шляхом використання запропонованої моделі, суть якої полягає у обприскуванні рослин люцерни у фазі прихованої бутонізації водним розчином полістимуліну К (ПС-К - 6-бензиламінопурин, іммобілізований на полімері).

Відомо, що використання полістимуліну К на декоративних квіткових рослинах в умовах забруднення ґрунту важкими металами покращує показники цвітіння [Бессонова В.П., Иваченко О.Е., Приймак Е.П. Влияние полистимулина К на качество цветения декоративных цветочных растений в условиях загрязнения окружающей среды // Укр. ботан. журн.-2006.-63, № 4. - С. 541-550], розроблено методичні рекомендації застосування ПС-К для підвищення стійкості озимої пшениці до посухи [Шматько И.Г. Технология применения полистимулина К для

повышения устойчивости озимой пшеницы к засухе (Метод, рекомендации) / Шматько И.Г., Григорюк И.А., АН Укр. ССР, Ин-т физиологии растений и генетики. - К.: б.и., 1990. - 18 с.].

Наведений нижче приклад призначений для ілюстрації та пояснення запропонованої корисної моделі. Для підтвердження ефективності заявленого проводили досліди з вирощування рослин люцерни за різного водозабезпечення.

Приклад.

Досліди проводили на базі Інституту фізіології рослин і генетики НАН України з використанням районованого на території України сорту люцерни посівної (*Medicago sativa* L.) Ярославна. Передпосівну інокуляцію насіння люцерни здійснювали виробничим штамом *S. meliloti* 441 і отриманим методом міжродової кон'югації штамом *S. meliloti* М6. Рослини вирощували на відкритому вегетаційному майданчику в 11-кілограмових посудинах Вагнера в піщаній культурі на поживному середовищі Гельрігеля з 0,25 норми азоту $[\text{Ca}(\text{NO}_3)_2]$. Вологість субстрату підтримували за допомогою контрольованого поливу на рівні 60 % повної вологоємності (ПВ). У фазі прихованої бутонізації рослини обприскували водним розчином полістимуліну К у концентрації 10^{-4} М. ПС-К синтезований у Російському хіміко-технологічному університеті ім. Д.І. Менделєєва. У день застосування регулятора росту у відповідних варіантах досліду зменшували поливну норму до 40 % ПВ, створюючи модельну посуху тривалістю 30 діб. Після цього вологість субстрату в посудинах відновлювали до 60 % ПВ. Визначали масу та кількість бульбочок на коренях рослин, а також активність азотофіксації ацетиленовим методом [Hardy, 1968; Крикунець, 1993] на газовому хроматографі "Chromatograph-504" (Польща), вивчали динаміку наростання кореневої та надземної маси рослин, а також урожай насіння. Статистична обробка експериментальних даних виконана загальноприйнятим методом [Доспехов, 1985].

У результаті проведених досліджень встановлено, що зменшення вологості субстрату з 60 до 40 % ПВ призводить до суттєвого зниження кількості та маси бульбочок на коренях люцерни, а також азотофіксувальної активності упродовж бутонізації - плодоношення (креслення). Обробка рослин ПС-К активізує формування азотофіксувального апарату за різного водозабезпечення, а також нівелює негативний вплив зниження вологості субстрату на фіксацію молекулярного азоту. Відомо, що азотофіксувальна активність у люцерни, як і в інших бобових, в онтогенезі змінюється: до початку фази цвітіння вона зростає, а відтак - знижується.

Проте, як показали проведені експерименти, обробка люцерни ПС-К подовжила період активного функціонування симбіотичного апарату до фази плодоношення на фоні інокуляції *S. meliloti* 441 за оптимального та недостатнього водозабезпечення, а також на фоні інокуляції *S. meliloti* М6 за посухи.

Вивчення динаміки наростання надземної маси рослин люцерни при обробці ПС-К показало (табл. 1), що в залежності від фази розвитку рослин і штаму-інокулянта застосування регулятора росту забезпечує прибавку цього показника за оптимального водозабезпечення на 11-36 %, а за недостатнього - на 13-30 %.

Вплив ПС-К на урожай зеленої маси та насіння люцерни теж залежав від штаму-інокулянта та водозабезпечення рослин. За оптимального водозабезпечення обробка рослин люцерни ПС-К на фоні інокуляції *S. meliloti* 441 істотно не впливала на урожай першого укосу надземної маси (табл. 2).

Застосування ПС-К на фоні інокуляції *S. meliloti* 441 за недостатнього водозабезпечення сприяло збільшенню надземної маси рослин першого укосу в середньому на 12 %, забезпечувало приріст надземної маси рослин другого укосу на 19 та 32 %, а також підвищувало врожай насіння люцерни на 17 та 36 % за оптимального та недостатнього водозабезпечення відповідно. Обробка люцерни, інокуюваної штамом *S. meliloti* М6, регулятором росту не вплинула суттєво на урожайності насіння люцерни за оптимального водозабезпечення, тоді як за 40 % ПВ застосування ПС-К спричиняло її зростання на 34 %.

Таблиця 1

Вплив ПС-К на наростання надземної маси (г/рослину)
люцерни, інокуюваної *Sinorhizobium meliloti* 441 та М6

| Варіант | Фаза розвитку рослин | | | | | |
|---------|------------------------------|---------------|--------------|---------------|--------------|---------------|
| | бутонізація-початок цвітіння | | цвітіння | | плодоношення | |
| | маса рослини | % до контролю | маса рослини | % до контролю | маса рослини | % до контролю |

Продовження таблиці 1

| Інокуляція <i>S. meliloti</i> 441 | | | | | | |
|-----------------------------------|-----------|-------|-----------|-------|-----------|-------|
| 60 % ПВ, без обробки (контроль 1) | 1,86±0,14 | 100 | 1,99±0,06 | 100 | 3,53±0,28 | 100 |
| 60 %ПВ, ПС-К | 2,07±0,15 | 111,3 | 2,35±0,15 | 118,1 | 4,81±0,26 | 136,3 |
| 40 % ПВ, без обробки (контроль 2) | 1,38±0,09 | 100 | 1,40±0,09 | 100 | 1,46±0,11 | 100 |
| 40 %ПВ, ПС-К | 1,56±0,18 | 113,0 | 1,77±0,12 | 124,6 | 1,86±0,16 | 127,4 |
| Інокуляція <i>S. meliloti</i> Мб | | | | | | |
| 60 % ПВ, без обробки (контроль 1) | 1,76±0,14 | 100 | 2,37±0,32 | 100 | 2,68±0,32 | 100 |
| 60 %ПВ, ПС-К | 1,75±0,13 | 99,4 | 2,95±0,49 | 124,5 | 3,49±0,35 | 130,2 |
| 40 % ПВ, без обробки (контроль 2) | 1,35±0,13 | 100 | 1,46±0,07 | 100 | 1,83±0,21 | 100 |
| 40 %ПВ, ПС-К | 1,61±0,06 | 119,3 | 1,90±0,14 | 130,1 | 2,15±0,17 | 117,5 |

Таблиця 2

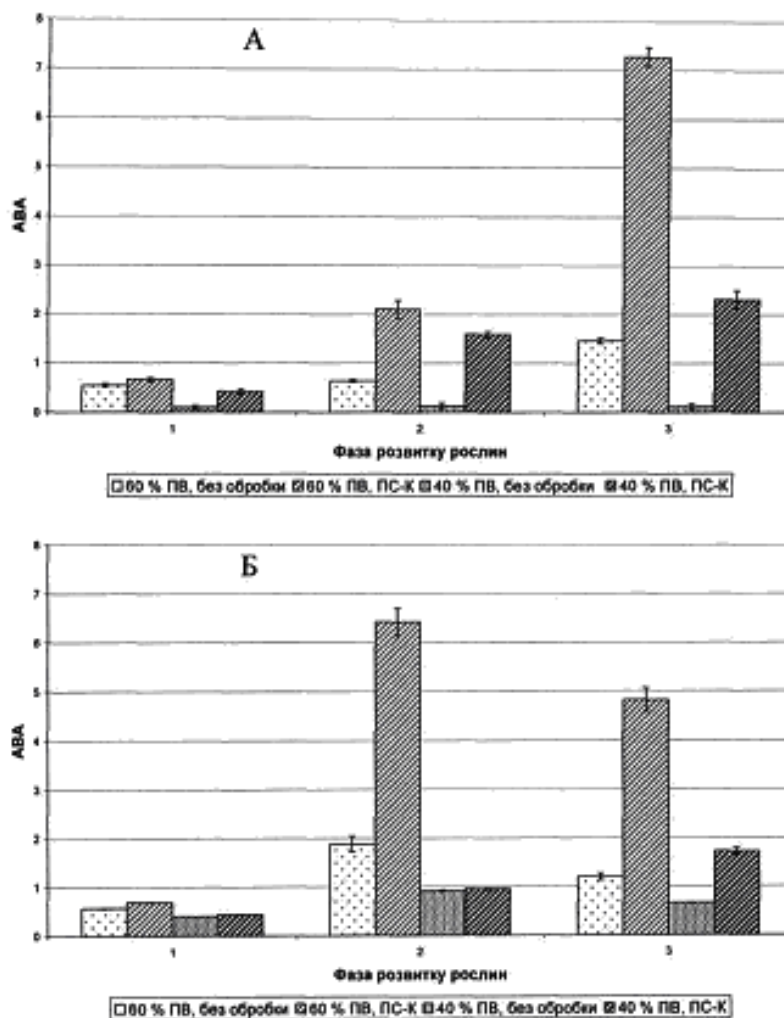
Урожай люцерни сорту Ярославна, інокульованої
Sinorhizobium meliloti 441, за дії різного водозабезпечення та регуляторів росту

| Варіант | Урожай надземної маси, г/посудину | | Урожай насіння, г/посудину |
|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------|----------------------------|
| | I укіс | II укіс | |
| 60 % ПВ, без обробки (контроль 1) | 23,06±1,43 | 7,47±0,30 | 2,19±0,21 |
| 60 %ПВ, ПС-К | 25,60±0,96 | 8,85±0,59 | 2,57±0,14 |
| 40 % ПВ, без обробки (контроль 2) | 15,69±0,85 | 6,51±0,52 | 0,56±0,03 |
| 40 % ПВ, ПС-К | 17,66±0,69 | 8,58±0,85 | 0,76±0,06 |

- 5 Таким чином, запропонована модель вирощування люцерни має певні переваги над існуючими завдяки пролонгованій дії регулятора росту, що приводить до покращення процесів формування і функціонування азотофіксуючих бульбочок на коренях люцерни як за оптимального, так і недостатнього водозабезпечення, стимулює ріст надземної маси рослин, а також сприяє підвищенню врожаю насіння.

10 ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 15 Спосіб підвищення азотофіксуючої активності та продуктивності симбіотичних систем люцерни - *Sinorhizobium meliloti*, що полягає у застосуванні при вирощуванні люцерни прийому обприскування рослин водним розчином полістимуліну К у концентрації 10^{-4} М у фазу прихованої бутонізації, який **відрізняється** тим, що даний прийом включає використання регулятора росту цитокінінової природи з пролонгованим типом дії, - наявність полімерного носія-матриці забезпечує поступове вивільнення бензиламінопурина (БАП) і, таким чином, подовжує його ефект, при цьому обробка проводиться у критичну для формування генеративних органів фазу розвитку рослин, що забезпечує підвищення врожаю насіння.



Комп'ютерна верстка Г. Паяльніков

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601