



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **110246** (13) **U**
(51) МПК (2016.01)
C05C 1/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки:	u 2016 06727	(72) Винахідник(и):	Скрипка Олександр Миколайович (UA), Токмакова Любов Миколаївна (UA), Волкогон Віталій Васильович (UA)
(22) Дата подання заявки:	21.06.2016	(73) Власник(и):	Скрипка Олександр Миколайович, вул. Шовковична, 13/2, кв. 118, м. Київ, 01021 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель:	26.09.2016		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	26.09.2016, Бюл.№ 18		

(54) КОМБІНОВАНЕ РІДКЕ БІОМІНЕРАЛЬНЕ ДОБРИВО

(57) Реферат:

Комбіноване рідке біомінеральне добриво, яке містить карбамід-аміачну суміш та мікробний препарат Поліміксобактерин із титром бактерій *Paenibacillus polymyxa* KB не менше 5 млрд. клітин/мл, причому співвідношення карбамід-аміачної суміші і Поліміксобактерину складає 400:1.

UA 110246 U

Корисна модель належить до хімічної та мікробіологічної промисловості, а саме до виробництва біомінеральних добрив на основі карбамід-аміачної суміші (КАС), і може бути використана у сільському господарстві, а саме - у рослинництві.

Практичний інтерес до біомінеральних добрив пояснюється тим, що вони мають комплексну дію на родючість ґрунту та розвиток культурних рослин.

Але слід відмітити, що на ринку добрив практично відсутні біомінеральні добрива, у тому числі й рідкі, використання яких збільшує коефіцієнти засвоєння рослинами діючої речовини з мінеральних добрив, зокрема КАС.

Відоме комбіноване біомінеральне добриво, одержане суміщенням рідкого мінерального добрива, зокрема КАС, та мікробної біомаси, яке являє собою мікробіологічне добриво або мікробний препарат на основі корисних мікроорганізмів з титром 10^2 - 10^5 клітин/г (RU № 2512277).

В описі до вказаного патенту у прикладі 2 наведене рідке мінеральне добриво - КАС, суміщене з різними мікроорганізмами *Bacillus subtilis* 4-13 з титром 10^4 клітин/г, в дозі 4 г/кг добрив, або у вигляді емульсії (бактерії: *Pseudomonas fluorescens* 2137; *Azotobacter chroococcum* 12; *Agrobacterium radiobacter* 10 - з титром 10^6 клітин/г) в дозі 3 г/кг добрив.

Одержані біомінеральні добрива вносили до вегетаційних посудин з дерново-підзолистим ґрунтом (3 кг) у дозі 4 г на посудину під пшеницю, редьку, кукурудзу, після чого на 5-й день аналізували ріст коріння проростків рослин. Одержані результати свідчать про достатньо позитивні результати впливу комбінованого рідкого біомінерального добрива на вказані сільськогосподарські культури.

Але бактерії, використані у відомому рішенні, *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Agrobacterium* не утворюють спор, що є причиною швидкої загибелі вегетативних клітин при контакті з агрохімікатами. У зв'язку із зазначеним сумнівним є факт достатнього впливу цих бактерій на засвоюваність рослинами добрив. Як наслідок можна стверджувати, що позитивний ефект забезпечують лише бактеріальні фізіологічно активні речовини, що залишилися після загибелі бактерій. При цьому їх кількість може не забезпечити високу ефективність біодобрива.

Задачею цієї корисної моделі є вдосконалення комбінованого біомінерального добрива шляхом поєднання компонентів різної природи та їх сукупної дії, в результаті чого досягається висока ефективність біомінерального добрива, яка проявляється як у покращенні якості рослин, так і у збільшенні їх урожайності.

Поставлена задача вирішується тим, що комбіноване рідке біомінеральне добриво, згідно з корисною моделлю, містить КАС та мікробний препарат Поліміксобактерин із вмістом бактерій *Paenibacillus polymyxa* KB (*P. polymyxa* KB) з титром не менше 5 млрд клітин/мл, причому співвідношення КАС і Поліміксобактерину складає 400:1.

Авторами запропонованої корисної моделі доведено, що сукупність наведених вище ознак рішення, що заявляється, визначає досягнення заявленого технічного результату, а саме, високу ефективність, що проявляється у покращенні якості одержаного сільськогосподарського продукту, збільшенні врожайності.

КАС, як один із компонентів запропонованого біомінерального добрива, характеризується широким спектром застосування у технологіях вирощування сільськогосподарських культур, а саме, для позакореневого, прикореневого підживлення рослин у всіх ґрунтово-кліматичних зонах.

КАС має ряд переваг у порівнянні з твердими азотними добривами. Однією з важливих переваг є забезпечення рослин протягом різних фаз розвитку трьома формами азоту - амідною, амонійною та нітратною. Інші переваги КАС: висока ефективність застосування у будь-яких кліматичних зонах, рівномірне внесення, точне дозування розподілу по площі, швидке проникнення у ґрунт, пролонгація дії, скорочення технологічних витрат завдяки можливості застосування у суміші з пестицидами, іншими рідкими мінеральними добривами та мікроелементами.

Іншим компонентом біодобрива, що заявляється, є мікробний препарат Поліміксобактерин, захищений патентом UA 99009, посвідчення про Державну реєстрацію А №03697. Біоагентом препарату Поліміксобактерин є бактерії *P. polymyxa* KB. Клітини вказаних бактерій авірулентні для теплокровних організмів. Токсикологічна оцінка показала екологічну та біологічну безпечність *P. polymyxa* KB при виробництві та застосуванні у рослинництві.

По суті, Поліміксобактерин характеризується подвійною дією, обумовленою, по-перше, власне бактеріями, а, по-друге, фізіологічно активними речовинами (карбонові кислоти, фітогормони ауксинової, гіберелінової і цитокінінової природи, вітаміни групи В), які синтезують бактерії. В таблиці 1 для підтвердження комплексної дії Поліміксобактерину наведено вміст

однієї із складових позитивного впливу препарату на ріст і розвиток рослин, а саме фізіологічно активних речовин у культуральній рідині *P. polymyxa* KB.

Таблиця 1

Вміст фітогормональних речовин у культуральній рідині *P. polymyxa* KB

ІОК, нг/мл		Гіберелінова кислота, мкг/мл	Цитокини, нг/мл						Тіамін (B ₁), мкг/мл;	Ціанкобаламін (B ₁₂), мкг/л
Вільна	Зв'язана		Зеатин	Зеатинрибозид	Зеатинглюкозид	Ізопентеніл-аденін	Ізопентеніл-аденозин	Всього цитокінів		
15,0±0,7	сліди	80,0±0,1	9,5±0,5	14,7±0,7	9,6±0,5	сліди	сліди	33,8	0,020	0,0025

5 Особливістю спільної дії КАС та мікробного препарату Поліміксобактерину є те, що останній підсилює ефективність мінерального добрива КАС. Як відомо, діючі речовини самого добрива засвоюються слабо: азотні складові - на 35-50 %, фосфорні - на 15-20 %, калійні - на 26 %. Вся решта належить до непродуктивних витрат.

10 Застосування мікробного препарату, що використовується, активно впливає на розвиток кореневої системи рослин і, відповідно, на її поглинальну здатність, формування угруповань мікроорганізмів у кореневій зоні, що в цілому сприяє підвищенню ступеню засвоєння рослинами мінерального добрива КАС. Як результат активізації відмічених процесів спостерігається підвищення врожайності сільськогосподарських культур.

15 Суть корисної моделі розкривають нижченаведені експериментальні дослідження можливості суміщення бактерій *P. polymyxa* KB з КАС та ефективності поєднання біологічного та мінерального чинників добрива при вирощуванні сільськогосподарських культур.

20 При дослідженні сумісності бактерій, що використовуються, з мінеральними добривами КАС була проаналізована динаміка збереження бактерій *P. polymyxa* KB при їх введенні у мінеральне добриво КАС (N-32 %) та їх культурально-морфологічні властивості. Для цього життєздатність *P. polymyxa* KB досліджували в суміші з мінеральним добривом КАС (N-32 %) у співвідношенні: добриво: бактеріальна суспензія = 1:0,125 (титр - 5,0 млрд. клітин бактерій в 1 мл препарату). Через 1,15, 30, 45, 60, 75, 90, 180 та 300 діб виявлено, що чисельність бактерій *P. polymyxa* KB хоча і знижується при зберіганні, проте характеризується достатньо високими показниками (табл. 2).

25

Таблиця 2

Динаміка збереження клітин бактерій *P. polymyxa* KB за їх включення в мінеральне добриво КАС (N-32 %)

Час експозиції, доба	Чисельність клітин <i>P. polymyxa</i> KB, млн./мл
1	2,2±0,0
15	2,2±0,2
30	2,1±0,1
45	1,7±0,1
60	1,7±0,2
75	1,4±0,3
90	1,2±0,1
180	1,1±0,2
300	1,0±0,2

30 Це пояснюється тим, що *P. polymyxa* KB є споруутворювальною бактерією, а дія несприятливих чинників на життєздатність таких мікроорганізмів значною мірою нівелюється. Отримані результати свідчать про потенційно можливе виготовлення та застосування біомінерального добрива за участі *P. polymyxa* KB. При цьому об'єднання мінерального і біологічного компонентів можливе як перед використанням, так і завчасно.

Крім того, досліджували культурально-морфологічні властивості бактерій *P. polymyxa* KB за їх включення в мінеральне добриво КАС (N-32 %). Через 1,15, 30, 45, 60, 75, 90, 180 та 300 діб реізолювали *P. polymyxa* KB із добрива. Дослідження реізолятів *P. polymyxa* KB після дії КАС

дозволило встановити, що культурально-морфологічні їх ознаки не змінюються і не відрізняються від характеристик вихідного штаму.

Таким чином, бактерії *P. polymyxa* KB зберігають життєздатність згі їх включення безпосередньо до мінерального добрива КАС (N-32) і не змінюють морфолого-культуральних властивостей.

Важливе значення для підтвердження збереження життєздатності та функціональних властивостей бактерій *P. polymyxa* KB у суміші з КАС мають дослідження їх рістстимуляторної активності за включення в КАС (N-32 %). Виділені бактеріальні реізольати порівнювали з вихідним штамом. Бактерії вирощували в рідкому поживному середовищі протягом трьох діб. Розбавлені у сто раз культуральні рідини використовували для визначення рістстимуляторної активності. Отримані результати свідчать, що бактерії після їх перебування в КАС не втратили активності (табл. 3).

Таблиця 3

Рістстимуляторна активність *P. polymyxa* KB після експозиції з КАС(N-32) (за результатами біопроби на насінні кукурудзи)

Варіанти досліджу	Довжина проростків кукурудзи, см
Замочування насіння у воді, контроль	1,6±0,3
Замочування насіння у культуральній рідині:	
Вихідного штаму <i>P. polymyxa</i> KB	2,5±0,6
Реізольату <i>P. polymyxa</i> KB № 1	2,6±0,4
Реізольату <i>P. polymyxa</i> KB № 2	2,3±0,6
Реізольату <i>P. polymyxa</i> KB № 3	2,5±0,3
Реізольату <i>P. polymyxa</i> KB № 4	2,4±0,7
Реізольату <i>P. polymyxa</i> KB № 5	2,6±0,4
Реізольату <i>P. polymyxa</i> KB № 6	2,5±0,5
Реізольату <i>P. polymyxa</i> KB № 7	2,6±0,8
Реізольату <i>P. polymyxa</i> KB № 8	2,5±0,3
Реізольату <i>P. polymyxa</i> KB № 9	2,6±0,4

Результати, наведені в таблиці 3, свідчать, що бактерії *P. polymyxa* KB не тільки зберігають життєздатність у суміші з КАС, а і не змінюють своїх функціональних властивостей. Отже, продукування фізіологічно активних речовин бактеріями, на відміну від відомого рішення (RU № 2512277), може здійснюватися і після контакту з хімічним добривом.

Для визначення оптимального співвідношення діючих у заявленому біомі-неральному добриві компонентів, а саме КАС і препарату Поліміксобактерину проводили наступні випробування: в умовах польового дослідження на чорноземі вилуженому ($pH_{\text{сол}}$ - 5,30, вміст гумусу - 2,12 %, азоту легкогідролізованого - 95,2 мг/кг, рухомих форм фосфору (P_2O_5) 226 мг/кг, обмінного калію 108 мг/кг) вирощували кукурудзу (гібрид Дніпропетровський 181 СВ). В основне добриво (під оранку) вносили мінеральні добрива з розрахунку $P_{100}K_{100}$. Під передпосівну культивування вносили КАС (N-32 %) у нормі (за діючою речовиною) N_{100} , а також КАС (N-32 %) у поєднанні з різними дозами Поліміксобактерину. Встановлено, що включення до КАС мікробного препарату по-різному впливало на розвиток рослин залежно від кількості препарату. Так, зокрема, площа листової поверхні рослин кукурудзи суттєво відрізнялася залежно від варіанта (табл. 4).

Таблиця 4

Площа асиміляційної поверхні рослин кукурудзи за різного співвідношення розчину КАС і Поліміксобактерину (фаза молочно-воскової стиглості зерна)

Варіанти удобрення	Площа асиміляційної поверхні, cm^2 /рослину
КАС (N-32 %)	4499,9
КАС (N-32 %) + Поліміксобактерин (співвідношення 400:10)	3700,0
КАС (N-32 %) + Поліміксобактерин (співвідношення 400:5)	5915,5
КАС (N-32 %) + Поліміксобактерин (співвідношення 400:1)	6860,5

КАС (N-32 %) + Поліміксобактерин (співвідношення 400:0,5)	5450,0
КАС (N-32 %) + Поліміксобактерин (співвідношення 400:0,1)	4650,0
НІР ₀₅	930,0

Найбільший показник площі асиміляційної поверхні формувалася за співвідношення розчину КАС і Поліміксобактерину 400:1. Збільшення частки мікробного препарату призводило до зменшення ефекту. Причому, співвідношення 400: 10 забезпечувало пригнічення розвитку рослин, що свідчить про передозування фізіологічно активних речовин. Співвідношення розчину КАС і Поліміксобактерину 400: 0,5 сприяло достовірному приросту показника, проте значно меншому, ніж це відмічено за співвідношення 400:1. У варіанті польового дослідження зі співвідношенням досліджуваних чинників 400:0,1 спостерігали лише тенденцію до зростання площі листової поверхні.

Отже, залежність розвитку рослин, наприклад, кукурудзи від співвідношення розчину КАС і Поліміксобактерину має параболічний характер, що характерно для дії рістстимулюючих речовин. Оптимальним співвідношенням є 400:1.

Для досягнення технічного результату, що заявляється, титр бактерій, що використовуються, в сукупності з усіма іншими ознаками корисної моделі, що пропонується, повинен складати не менше 5 млрд. клітин/мл.

Корисна модель, що заявляється, пояснюється прикладами конкретного виконання.

Приклад 1

Комбіноване біомінеральне добриво, що заявляється, одержують шляхом поєднання двох складових: рідкого мінерального азотного добрива КАС (N-28-32 %) та мікробного препарату Поліміксобактерину у співвідношенні 400:1, титр мікробного препарату складає не менше 5 млрд. клітин бактерій *P. polymyxa* KB в 1 мл.

Приклад 2

В наступному прикладі наведені результати досліджень комбінованого біодобрива, що заявляється. В умовах польового дослідження на чорноземі вилуженому ($pH_{\text{сол.}}$ - 5,30, вміст гумусу - 2,12 %, азоту легкогідролізованого - 95,2 мг/кг, рухомих форм фосфору (P_2O_5) - 226 мг/кг, обмінного калію - 108 мг/кг) вирощували кукурудзу (гібрид Дніпропетровський 181 СВ). В основне добриво (під оранку) вносили мінеральні добрива з розрахунку $P_{100}K_{100}$. Під передпосівну культивування вносили КАС (N-32 %) у нормі (за діючою речовиною) N_{100} , а також КАС (N-3 2 %) у поєднанні з Поліміксобактерином за співвідношення 400:1.

У ході дослідження відмічено активний розвиток рослин за використання експериментального біомінерального добрива. Стимулювання росту і розвитку рослин кукурудзи позитивно позначилося на формуванні урожайності культури. Так, приріст урожаю зерна кукурудзи при застосуванні біомінерального добрива, що заявляється, порівняно із застосуванням КАС - 32, становив 1,9 т/га (табл. 5).

Таблиця 5

Вплив КАС (N-32) та біомінерального добрива (КАС (N-32) + Поліміксобактерин) на урожайність зерна кукурудзи, польовий дослід

Варіанти удобрення	Урожайність зерна кукурудзи, т/га
КАС - 32	10,3
Біомінеральне добриво	12,2
НІР ₀₅	0,4

Відомо, що фізіологічно активні речовини, у т. ч. й фітогормони, високим вмістом яких характеризується мікробний препарат Поліміксобактерин (див. табл. 1), позитивно впливають на засвоєння сполук біогенних елементів та активне їх використання у конструктивному метаболізмі рослин. Наслідком цього є покращення якості продукції, зокрема, зростання її енергетичної цінності (що можна прослідкувати за вмістом фосфору) та забезпечення білком. Як свідчать отримані результати, використання біомінерального добрива на основі КАС та

Поліміксобактерину сприяє покращенню фосфорного живлення рослин і підвищенню вмісту фосфору в зерні кукурудзи (табл. 6).

Таблиця 6

Вміст фосфору в зерні кукурудзи за використання біомінерального добрива, польовий дослід

Варіанти удобрення	Вміст P_2O_5 , %
КАС - 32	0,70±0,01
Біомінеральне добриво	0,75±0,01

Крім того, застосування біомінерального добрива, що пропонується, сприяло зростанню вмісту білка в зерні кукурудзи на 0,4 % (табл. 7).

5

Таблиця 7

Вміст білка в зерні кукурудзи за дії біомінерального добрива, польовий дослід

Варіанти удобрення	Білок, %
КАС (N-32)	11,4±0,1
Біомінеральне добриво	11,8±0,2

В умовах польового дослід на чорноземі вилуженому ($pH_{\text{сол.}}$ - 5,30, вміст гумусу - 2,12 %, азоту легкогідролізованого - 95,2 мг/кг, рухомих форм фосфору (P_2O_5) - 226 мг/кг, обмінного калію - 108 мг/кг) вирощували пшеницю озиму сорту Сонечко. В основне удобрення (під оранку) вносили мінеральні добрива з розрахунку $N_{30}P_{90}K_{90}$. Весною при відновленні вегетації рослин проводили підживлення розчином КАС (N-32 %) із розрахунку N_{30} . Окремо проводили підживлення розчином КАС (N-32 %) із розрахунку N_{30} разом із Поліміксобактерином (співвідношення 400:1). У фазу виходу в трубку проводили повторне підживлення розчином КАС та (окремо) таким же розчином із додаванням Поліміксобактерину. Проводили облік урожаю культури, визначали вміст білка у зерні.

Результати випробувань наведено у табл. 8.

Таблиця 8

Урожайність пшениці озимої за використання КАС та біомінерального добрива (КАС + Поліміксобактерин)

Варіанти позакореневого підживлення	Урожайність, т/га
КАС - 32	6,2
Біомінеральне добриво	7,0
$НІР_{03}$	0,3

Застосування експериментального комбінованого біомінерального добрива (поєднання КАС (N-32 %) з Поліміксобактерином) сприяло отриманню урожайності пшениці на рівні 7 т/га, що на 0,8 т/га більше за показник, отриманий у варіанті використання КАС без мікробного препарату.

В технології вирощування пшениці озимої застосування біомінерального добрива для позакореневого підживлення рослин сприяло зростанню вмісту білка в зерні (табл. 9).

Таблиця 9

Вміст білка в зерні пшениці озимої за використання КАС та біомінерального добрива (КАС + Поліміксобактерин)

Варіанти позакореневого підживлення	Вміст білка, %
КАС - 32	14,4
Біомінеральне добриво	15,7
$НІР_{03}$	0,5

Таким чином, результати наведених експериментальних досліджень свідчать про досягнення заявленого технічного результату, а саме, високої ефективності застосування

комбінованого рідкого біомінерального добрива, що виражається як у збільшенні врожайності сільськогосподарських культур, так і покращенні якості одержуваної продукції.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

5

Комбіноване рідке біомінеральне добриво, яке **відрізняється** тим, що містить карбамід-аміачну суміш та мікробний препарат Поліміксобактерин із титром бактерій *Paenibacillus polymyxa* KB не менше 5 млрд. клітин/мл, причому співвідношення карбамід-аміачної суміші і Поліміксобактерину складає 400:1.

10

Комп'ютерна верстка А. Крижанівський

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

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