



УКРАЇНА

(19) UA (11) 61484 (13) A

(51) 7 C05F11/08

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА ВИНАХІДвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

(54) МІКРОБНИЙ ІНОКУЛЯТ ҐРУНТУ

1

2

(21) 2003021259

(22) 11 02 2003

(24) 17 11 2003

(46) 17 11 2003, Бюл. № 11, 2003 р.

(72) Нечесов Іван Александрович, RU, Булдагасва  
Раїса Васильевна, RU, Нечесова Ольга Івановна,  
RU, Нечесов Олег Іванович, RU

(73) Нечесов Іван Александрович, RU

(57) Мікробний інокулянт ґрунту, який включає су-  
міш живих мікробних культур, який відрізняється  
тим, що він містить фототрофні аноксигенні пурпу-  
рні несірчані бактерії родів *Rhodopseudomonas**palustris* 100-И і *Rhodobacter spheroides* 5, гомофе-  
рментативні стрептобактерії, палички роду  
*Lactobacillus* *L. casei* 21 і *L. plantarum* 51, гомофе-  
рментативні стрептококи роду *Lactococcus lactis* 47 і  
одноклітинні гриби *Saccharomyces cerevisiae* 22  
при наступному співвідношенні компонентів, об. %*Rhodopseudomonas palustris* 100-И 14-17*Rhodobacter spheroides* 5 13-16*Lactobacillus casei* 21 15-17*Lactobacillus plantarum* 51 15-18*Lactococcus lactis* 47 25-30*Saccharomyces cerevisiae* 22 8-12

Винахід належить до галузі біотехнології сіль-  
ськогосподарської мікробіології, а саме до одер-  
жання біопрепаратів, які підвищують продуктив-  
ність сільськогосподарських культур.

Відомий біопрепарат для рослинництва, який  
містить живу мікробну культуру *Klebsiella oxytoca* і  
наповнювач - екзополісахарид муцилан, проду-  
цуваний *Bacillus mucilaginosus* (див. патент України  
№13883, кл. C05F11/08, 1994р.)

Недоліком відомого біопрепарату є складність  
технологічного процесу при його виготовленні і  
його високої собівартості і невисокої активності  
при використанні.

Відомий також біопрепарат для росту і захисту  
рослин, який містить у якості живої мікробної куль-  
тури суміш *Klebsiella oxytoca* ІМБГ 26 і *Bacillus*  
*mucilaginosus* ІМБГ 261 (див. патент України  
№44189, кл. C05F11/08, 2001р.) Прийнятий за  
прототип.

Недоліком відомого біопрепарату, прийнятого  
за прототип, є невисока активність при його вико-  
ристанні.

В основу винаходу поставлена задача ство-  
рення високоефективного і недорогого біопрепа-  
рату на основі суміші живих мікробних культур  
різних фізіологічних груп мікроорганізмів, виділе-  
них з різних екосистем Байкальського регіону.

Поставлена задача вирішується тим, що в мік-  
робному інокуляті, який містить суміш живих мік-  
робних культур, містяться фототрофні аноксигенні  
пурпурні несірчані бактерії родів

*Rhodopseudomonas palustris* 100-И і *Rhodobacter*  
*spheroides* 5, гомоферментативні стрептобактерії,  
палички роду *Lactobacillus* *L. casei* 21 і *L.*  
*plantarum* 51, гомоферментативні стрептококи  
*Lactococcus lactis* 47 і одноклітинні гриби  
*Saccharomyces cerevisiae* 22 при наступному спів-  
відношенні компонентів, об. %*Rhodopseudomonas palustris* 100-И 14-17*Rhodobacter spheroides* 5 13-16*Lactobacillus casei* 21 15-17*Lactobacillus plantarum* 51 15-18*Lactococcus lactis* 47 25-30*Saccharomyces cerevisiae* 22 8-12

Причинно-наслідковий зв'язок між сукупністю  
ознак, перерахованих вище у формулі винаходу, і  
вищевикладеним технічним результатом полягає в  
наступному.

У порівнянні з хімічними засобами, застосову-  
ваними в сільському господарстві, мікробіологічні  
добрива по ступені впливу на організм відносяться  
до речовин 4-го класу небезпеки, малотоксичні  
для людини і теплокровних тварин, бджіл, при за-  
стосуванні не утворюють токсичних сполук у повіт-  
рі і стічних водах.

Мікробний інокулянт ґрунтів являє собою кон-  
сорціум мікроорганізмів. Розроблений на основі  
груп мікроорганізмів, виділених з різних екосистем  
(рослин, ґрунту, води і ґрунту озер Байкальського  
регіону) Штами використовуваних мікроорганізмів  
зберігаються в особистій робочій колекції авторів.

Експериментальні дослідження мікробного

(13) A

(11) 61484

(19) UA

інокулята ґрунту проведені в Міністерстві охорони здоров'я Росії. За даними експериментальних досліджень зроблені висновки про те, що вхідні до складу біопрепарату штами мікроорганізмів непатогенні і кваліфіковані як промислові мікроорганізми (підстава - «Методические указания по экспериментальному обоснованию ПДК микроорганизмов-продуцентов и содержащих их готовых форм препаратов в объектах производственной и окружающей среды», Москва, 1991р). Вони не мають вірулентності, токсичності і токсигенності.

Оцінка впливу мікробного інокулята ґрунту на мікробіологічну активність проводилася по кількісній і якісній сполучі бактерій і одноклітинних грибів, на біохімічну - по каталазній, протеолітичній і нуклеазній активності ґрунтів. Досвіди проводилися на широко розповсюджених і використовуваних у сільськогосподарському виробництві Прибайкалля сірих пісочних фунгах і малопотужних чорноземах. Аналіз отриманих даних показав наступне:

1. Відзначено деяке зниження чисельності хемоорганогетеротрофних неспорівих кокових бактерій.

2. Незначно збільшувалася кількість спороутворюючих бактерій роду *Bacillus*, які використовують легкодоступні органічні речовини, і коринеформних бактерій роду *Arthrobacter*.

3. Помітно зростає кількість олигонітрофілів і хемоорганогетеротрофних грамнегативних аеробних паличковидних бактерій не утворюючих спори (рід *Pseudomonas*, рід *Azotobacter*, рід *Beijerinckia*) і грам-позитивних спороутворюючих бактерій роду *Clostridium*.

4. Відзначено збільшення чисельності і якісного різноманіття одноклітинних грибків родів *Lipomyces* і *Cryptococcus*.

5. Відзначено тенденцію підвищення ферментативної активності ґрунтів.

У такий спосіб слід зазначити, що застосування препарату не подавляє біохімічну активність (каталазну, протеолітичну, нуклеазну) у ґрунті, і в цілому робить позитивний ефект на життєдіяльність мікробного комплексу ґрунту.

Мікробний інокулят ґрунту стимулює розвиток природної «аборигенної» мікробіоти ґрунту і рослин, яка сформувалася в процесі еволюції єдиного ґрунтоутворювального процесу, що в значній мірі знижує негативний вплив господарської діяльності людини на ці об'єкти і тим самим сприяє оздоровленню навколишнього середовища.

Мікробний інокулят ґрунту являє собою культуральну рідину, яка містить мікробні клітини і продукти їхнього метаболізму. Він є основою для виробництва маткового концентрату, який, у свою чергу, використовують для виробництва рідких або порошкоподібних (з використанням різного роду наповнювачів і адсорбентів) мікробіологічних добрив, зокрема, препаратів серії «Ефективні мікроорганізми» («ЕМ»).

Кожна група мікроорганізмів, описана в якісній систематичній сполучі мікробного інокулята ґрунту, виконує визначену роль. При різкій зміні співвідношення груп або мікроорганізмів, випаданні якої-небудь групи технічний результат не може бути досягнутий, тому що різко знижується якість по

продукуванню біологічно активних речовин, азотфіксації й ін. Низький титр мікроорганізмів у готовому біопрепараті неприпустимий, тому що не буде досягнутий позитивний ефект підвищення врожайності сільськогосподарських культур і поліпшення родючості ґрунтів через придушення внесених мікроорганізмів природною мікрофлорою.

Мікробний інокулянт готують у такий спосіб:

Матковий мікробний інокулят ґрунту готують на основі багатокомпонентної суміші мікроорганізмів, вирощених на відповідних селективних середовищах. Далі з маткового мікробного інокулята ґрунту на живильних середовищах при температурі +30-32°C готують концентрат, і далі з концентрату - виробничий (готовий до вживання) препарат. При виробництві неприпустимий низький титр клітин мікроорганізмів, порушення вищеписаних пропорцій груп мікроорганізмів і, тим більше, «випадання» якої-небудь із груп.

Усі роботи проводять з дотриманням правил асептики.

живильні середовища стерилізують в автоклаві при 0,7-1,0 атм,

скляний посуд стерилізують у сушильній шафі при температурі +160°C протягом 60 хвилин,

ферментери стерилізують гарячою текучою парою з парогенератора протягом 1 години.

Приготовлені з мікробного інокулята концентрат і промисловий препарат, а так само і сам інокулят являють собою рідину від ясно-коричневого до коричневого кольору з кефірно-сирним (молочно-кислим) запахом. Показник активності водневих іонів - 3,0-3,8. Загальний титр  $10^8$ - $10^9$  - для інокулята,  $10^7$ - $10^8$  - для концентрату і  $10^7$ - $10^8$  - для промислового препарату. При збереженні можливе утворення плівки на поверхні рідини і випадання її в осад. Це не впливає на якість. Наявність сторонніх мікроорганізмів при виробництві великих обсягів промислового препарату в ємностях обсягом більш 100 літрів і вище допускається, але не більш 5%.

Приклади використання мікробного інокулята ґрунту.

Мікробний інокулят ґрунту виробляється авторами з 1999 року по дійсний час як основа для виробництва мікробіопрепаратів серії «ЕМ» для масового застосування в різних регіонах Російської Федерації й України. Результати його багаторічного застосування в різних галузях сільського господарства приводяться нижче.

Приклад 1.

Внесення в ґрунт.

При осінній або весняній обробці ґрунту (оранка, дискування, культивування) мікробний інокулят вносять у ґрунт до 5 л/га при концентрації від 1-100 до 1-200. У результаті активізуються процеси деградації поживних залишків, йде накопичення мінерального азоту і накопичення гумусоподібних сполук.

Приклад 2.

Передпосівна обробка насіння.

Обробка насіння цукрового буряка робочим розчином 10 л/т (2 л препарату) у розведенні 1-100 підвищує енергію схожості насіння і врожайність коренеплоду до 5 т. Внесення в ґрунт робочого

розчину в кількості 200л/га дає збільшення врожаю до 10т/га і підвищує цукристість на 1% на противагу контролю - 16,8%

Передпосівна обробка насіння зернових культур (пшениця, ячмінь і ін.) проводиться препаратом у концентрації 100 і 50% (водяний розчин) при нормі витрати 7л рідини на 1т насіння (1л препарату). При такій обробці підвищується врожайність зернових культур на 6,6-15%. Для кращої обнасіненості мікроорганізмами поверхні насіння "при обробці з препаратом використовують "прилипачі" (патока, меліса, бурячний дефікат і ін.) у кількості 20-30мс<sup>3</sup> на літр розчину.

Насіння овочевих культур (огірки, помідори, морква й ін.) замочують у 50-100% розчині мікробного інокулята протягом 1-2 годин. Після замочування насіння висушують до сипкості не під прямими променями сонця і відразу висівають.

Приклад 3

Обробка вегетируючих рослин

Протягом усього вегетаційного періоду можлива обробка розчином мікробного інокулята просяних культур і рослин тепличних господарств. Початок обробки соняшника і цукрового буряка розчином мікробного інокулята починають у фазу 4-6 справжніх листів і картоплі після появи сходів.

Норма витрати 3-5л/га при розведенні 1 100-200. За вегетаційний сезон обробка проводиться 2-3 рази. У тепличних господарствах обприскування рослин мікробним інокулятом можливо проводити 6-7 разів за сезон з перервою 7-10 днів при витраті препарату 0,5л на 100м<sup>2</sup>, при розведенні 1 50-100. Це забезпечує підвищення врожайності соняшника і буряка до 10% у картоплі. При цьому цукристість буряка зростає до 1%. Врожай сої й огірків при обприскуванні розчином мікробного інокулята зростає на 15-20%.

Приведені приклади не відбивають усього спектра можливостей позитивного використання мікробного інокулята ґрунту, однак, наочно показують переваги препарату, який заявляється.

Готові до застосування препарати, зроблені на основі мікробного інокулята ґрунту, можуть бути використані у вигляді основного водяного розчину різної концентрації для внесення в ґрунт і обробки вегетативних частин рослин, а також для готування різних компостів. Посилені препарати (з більш високим титром мікроорганізмів) можуть бути використані для очищення і знезаражування стічних вод, мулистих осадів очисних споруджень, фугатів смітників.