



УКРАЇНА

(19) UA (11) 27855 (13) U

(51) МПК (2006)

C05F 11/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОТРИМАННЯ БАКТЕРІЙНОГО ДОБРИВА

1

2

(21) u200710769

(22) 01.10.2007

(24) 12.11.2007

(72) КОЧКА КИРИЛО ОЛЕКСІЙОВИЧ, UA

(73) КОЧКА КИРИЛО ОЛЕКСІЙОВИЧ, UA

(56)

(57) 1. Спосіб отримання бактерійного добрива, що включає приготування поживного середовища, до складу якого входять мікроелементи, культивування живої маточної культури і інокуляцію маточної культури, який відрізняється тим, що до складу поживного середовища додатково вводять солі калію, натрію, кальцію і амонію, сахарозу, дріжджовий автолізат та патоку, яку перед внесенням до поживного середовища заздалегідь перемішують з водою, отриманою

шляхом зворотного осмосу, і автоклавують при 0,4-0,45 атм. протягом 20-24 хв., а культивування живої маточної культури проводять, використовуючи штам молочнокислих бактерій.

2. Спосіб отримання бактерійного добрива за п. 1, який відрізняється тим, що для культивування живої маточної культури штам молочнокислих бактерій беруть в кількості 9-10 % від загального об'єму поживного середовища.

3. Спосіб отримання бактерійного добрива за п. 1, який відрізняється тим, що культивування живої маточної культури проводять протягом 5-7 діб при температурі 30-32 °C, а потім при температурі 20-25 °C протягом 5-7 діб до отримання рН 3,0-3,5 готового продукту.

Корисна модель відноситься до області технічної мікробіології і сільського господарства, а саме до способів отримання бактерійних добрив. Бактерійне добриво, одержане пропонуваним способом, застосовується при вирощуванні будь-яких видів рослин, тобто для вирощування овочевих культур, плодових, кущів, дерев на присадибних та садових ділянках, в теплицях, для вирощування квітів в домашніх умовах та на ділянках, в міському природоохоронному комплексі для озеленення парків, зон відпочинку. Призначений для замочування насіння, поливання та обприскування рослин, як додаток до фунгових сумішей та шляхом інокуляції ґрунтів.

В рослинництві останнім часом гостро стоїть проблема захисту культурних рослин від грибкових, вірусних, бактеріальних захворювань. Крім того, такі фактори як низькі та високі температури, недостатність вологи також призводять до великих втрат посівів. В перспективі, в зв'язку з погіршенням клімату, яке припускають, проблема захисту рослин стане ще гостріше. Одним із шляхів її вирішення є застосування в системі агротехнічних заходів біологічних препаратів комплексної дії, що індукують природний імунітет та впливають на рослини в мінімальних дозах.

Сучасним напрямком підвищення врожайності сільськогосподарських культур та покращення якості продукції рослинництва в світі є впровадження в сільськогосподарське виробництво науковоємних енергозберігаючих технологій із застосуванням біорегуляторів росту рослин.

За останні роки науковцями створені біорегулятори росту рослин нового покоління, які характеризуються високою ефективністю та екологічною безпекою. Вони активізують основні процеси життєдіяльності рослин - мембранні процеси, поділ клітин, ферментні системи, фотосинтез, процеси дихання і живлення, сприяють підвищенню біологічної і господарської ефективності рослинництва, зниженню вмісту нітратів, іонів важких металів і радіонуклідів у продукції.

Фундаментальними дослідженнями показано, що спільне застосування бактерійних добрив для рослин із сучасними протруйниками, гербіцидами та інсектофунгіцидами дає можливість зменшити на 20-25% норми використання пестицидів на 1 гектар посівів без зниження захисного ефекту.

Такі біорегулятори росту підвищують врожайність сільськогосподарських культур на 15-20% при значному поліпшенні якості вирощеної продукції, що зазначений агрозахід є одним з

(13) U

(11) 27855

(19) UA

найбільш рентабельних резервів підвищення врожаю, особливо в умовах недостатнього забезпечення посівів добривами біологічного походження.

Особливого значення набуває можливість за допомогою бактерійних добрив підвищувати стійкість рослин до пошкодження хворобами та фітопатогенними мікроорганізмами. За даними Інституту мікробіології та вірусології НАМ України використання таких біорегуляторів росту рослин спільно з протруйниками, наприклад, при передпосівній обробці насіння озимої пшениці сприяє формуванню непатогенного оточення в зоні росту рослин, їх кращому виживанню в критичні періоди розвитку, зменшенню фітотоксичної дії пестицидів.

Вивчення дії нових препаратів в галузі біотехнологій показали можливість суттєвого зменшення надходження радіонуклідів в продукцію рослинництва на забруднених чорнобильською аварією землях.

Результатами досліджень доведено, що застосування бактерійних добрив при вирощуванні сільськогосподарських культур належить до низьковитратних заходів і окупається приростами урожаїв в десятки разів.

Відомі біопрепарати для рослин, в яких бактерії іммобілізуються на твердому посіві (торф, пінопласт), або вводяться у мікрокапсули органічного походження (альгінатні кульки) для кращого виживання бактеріальних клітин.

Для виготовлення біопрепаратів на твердому носіїві використовується неекоекологічний енергоємний засіб стерилізації - опромінення (γ -промінь). Видобування таких носіїв як торф, сапропель, приводить до винищення їх природних запасів та порушення балансу у природних екосистемах. Використання деяких синтетичних полімерів як носіїв для мікроорганізмів призводить до забруднення навколишнього природного середовища. Природні полімери добре себе зарекомендували як наповнювачі мікробних препаратів (альгінати, бактеріальні екзополісахариди), але технології їх виробництва залишаються дорогими, енергоємними та складними.

В даний час широке поширення в якості органічного, екологічно чистого, високоефективного мікродобрива має біогумус, що представляє собою продукт життєдіяльності червоного каліфорнійського черв'яка. За відомим способом отримання мікродобрива [див. RU C2 2203255, 27.04.2001], поглинаючи разом із ґрунтом величезну кількість рослинних залишків, найпростіших нематод, мікробів, грибів, черв'яки переварюють їх і знезаражують, виділяючи разом з капролітами (купки землі, що виділяються черв'яками) велику кількість гумусу, власне мікрофлори черв'яка, амінокислот, ферментів, вітамінів і інших біологічно активних речовин. Сукупність цих речовин і елементів складає біогумус - основне джерело енергії для процесів перетворення в ґрунті мінеральних сполук і реакцій біосинтезу. При цьому в біогумусі органічно поєднуються властивості мікродобрива. Біогумус має фунгіцидні і бактерицидні

властивості, що полягають в пригніченні розвитку збудників захворювань, тобто вплив препарату на рослини обмежено захистом їх від хвороб. Але для знищення патогенної мікрофлори рослин препарат, як правило, застосовують разом із традиційними фунгіцидами і пестицидами.

Існує спосіб отримання бактерійного добрива, в якому суспензію мікроорганізмів змішують з пропаленим мінералом, а потім отриману суміш висушують під вакуумом [див. з. Франції, №2592892, 17.07.87]. Такий підхід забезпечує високий вихід життєздатних клітин у сипучому препараті. Однак, вакуумне висушування препарату значно подовжує час його отримання та збільшує вартість готового продукту.

Найбільш близьким до заявленої корисної моделі є спосіб отримання удобрювального біопрепарату [див. пат. UA №12536U, 15.02.2006] у вигляді рідини з добавкою культури бактерій, призначених для підвищення врожайності сільськогосподарських культур. За цим найближчим аналогом, спосіб містить вирощення маточної культури штаму фосфатмобілізуєчих бактерій *Enterobacter nimipressuralis* 32-3, приготування поживного середовища для виробничої культури бактерій, його стерилізацію, перевірку на наявність сторонньої мікрофлори, нейтралізацію, інкубацію виробничого поживного середовища у ферментері маточною культурою штаму фосфатмобілізуєчих бактерій для передпосівного обробітку насіння з метою покращення живлення рослин. Вирощування виробничої культури призводять протягом двох-трьох діб при 200-220 обертах за хвилину і температурі 27-30°C.

Недоліком найближчого аналога є складність технології виробництва бактерійного добрива та тривалість часу отримання готового продукту за рахунок того, що крім загальних з пропонованим способом процесів, технологія за найближчим аналогом додатково містить вирощення маточної культури, стерилізацію поживного середовища, перевірку на наявність сторонньої мікрофлори, нейтралізацію, причому вирощування виробничої культури призводять протягом двох-трьох діб при 200-220 обертах за хвилину і все це веде до високої енергоємності процесу отримання препарату та призводить до його високої собівартості. Отримане таким чином добриво має низькі фунгіцидні і бактерицидні властивості, тобто вплив препарату на рослини обмежено.

Технічним результатом корисної моделі є спрощення і здешевлення виробництва добрива, скорочення тривалості часу отримання готового продукту, покращення фунгіцидних і бактерицидних властивостей препарату.

В основу корисної моделі поставлена технічна задача створення способу отримання бактерійного добрива на основі штаму кисломолочних бактерій - нового бактерійного препарату для підвищення врожайності всіх видів сільськогосподарських культур.

Поставлена технічна задача вирішується тим, що спосіб отримання бактерійного добрива, який включає приготування поживного середовища, до складу якого входять мікроелементи,

культивування живої маточної культури та інокуляцію маточної культури, згідно корисної моделі, до складу поживного середовища додатково вводять солі калію, натрію, кальцію і амонію, сахарозу, дріжджовий автолізат та патоку, яку перед внесенням до поживного середовища заздалегідь перемішують з водою, отриманою шляхом зворотного осмосу і автоклавують при 0,4-0,45атм. протягом 20-24хв, а культивування живої маточної культури проводять, використовуючи штам молочнокислих бактерій. Згідно корисної моделі, для культивування живої маточної культури штам молочнокислих бактерій беруть в кількості 9-10% від загального об'єму поживного середовища. Згідно корисної моделі, культивування живої маточної культури проводять протягом 5-7 діб при температурі 30-32°C та протягом 5-7 діб при температурі 20-25°C до отримання рН 3,0-3,5 готового продукту.

Між сукупністю суттєвих ознак корисної моделі і технічним результатом, що досягається, існує такий причинно-наслідковий зв'язок.

За рахунок приготування поживного середовища, до складу якого окрім мікроелементів додатково вводять солі калію, натрію, кальцію і амонію, сахарозу, дріжджовий автолізат та патоку, яку заздалегідь перемішують з водою, отриманою шляхом зворотного осмосу і автоклавують при 0,4-0,45атм. протягом 20-24хв, та культивування живої маточної культури, що проводять, використовуючи штам молочнокислих бактерій, які беруть в кількості 9-10% від загального об'єму поживного середовища та проводять протягом 5-7 діб при температурі 30-32°C та протягом 5-7 діб при температурі 20-25°C до отримання рН 3,0-3,5 готового продукту досягається спрощення і здешевлення технології виробництва добрива, скорочення тривалості часу отримання готового продукту, покращення фунгіцидних і бактерицидних властивостей препарату, та отримується новий бактерійний препарат для підвищення врожайності всіх видів сільськогосподарських культур. За рахунок автоклавування патоки перед внесенням її до поживного середовища забезпечується прискорення розчеплення вуглеводів, що в свою чергу прискорює процес культивування живої маточної культури, а за рахунок використання штамів молочнокислих бактерій забезпечується висока антагоністична активність по відношенню до патогенної і умовно-патогенної мікрофлори ґрунтів.

Спосіб здійснюють таким чином.

Перед приготуванням поживного середовища готують наперед розчин патоки і розчин дріжджового автолізату, необхідну кількість патоки поміщають в ємність і перемішують з водою, отриманою шляхом зворотного осмосу, потім автоклавують при 0,4-0,45атм. протягом 20-24хв. Дріжджовий автолізат виготовляють за відомою технологією, а потім готують поживне середовище, при цьому в біореактор вводять розчин патоки, розчин отриманого дріжджового автолізату, сахарозу, калій фосфорнокислий однозаміщений, калій фосфорнокислий двозаміщений, кальцій хлористий, амоній хлористий, натрій хлористий і

мікроелементи. Після наповнення біореактору водою середовище, не стерилізуючи, ретельно перемішується і вимірюється рН (6,0-6,5), а потім середовище нагрівають в біореакторі до 30-32°C і вводиться рідкий маточний інокулят, узятий в кількості 9-10% від загального об'єму поживного середовища (у разі приготування концентрату) або концентрат (у разі приготування препарату). Культивування маточного інокуляту проводять при температурі 30-32°C протягом 5-7 діб. Кришка біореактору повинна дуже щільно прилягати до стінок, повністю виключаючи доступ повітря. Щодня проводять перемішування культивованої рідини. На 6-у добу проводять вимірювання рН (3,5-3,7), а за тим отриманий концентрат (або препарат) 5-7 діб залишається в біореакторі при температурі 20-25°C. Через 10-12 діб від початку культивування концентрат вважався готовим (рН 3,0-3,5). Концентрат розливають в пластмасові ємності, видавлюють (видаляють) надмірне повітря щоб уникнути розвитку аеробної мікрофлори і зберігають при температурі 5-7°C. Пластмасові ємності повинні бути непрозорі з кришками, що щільно закриваються.

Одержане бактерійне добриво на основі штаму молочнокислих бактерій використовується при вирощуванні будь-яких видів рослин, тобто для вирощування овочевих культур, плодівих, кущів, дерев на присадибних та садових ділянках, в теплицях, для підвищення їх врожайності, а також для вирощування квітів в домашніх умовах та на ділянках, в міському природоохоронному комплексі для озеленення парків, зон відпочинку. Добриво призначене для замочування насіння, поливання та обприскування рослин, як додаток до фунтових сумішей та шляхом інокуляції ґрунтів.

Представлений бактерійний препарат може виготовлятися у вигляді препаратів з різною концентрацією його активних речовин, у вигляді концентрату або готового для обробки препарату, що дозволяє використовувати його більш ефективно в залежності від виду рослинного матеріалу. Одна з його форм є високонцентрованим препаратом з підвищеною в 5 разів концентрацією його активних компонентів, зі збереженою живою мікрофлорою. При приготуванні водних розчинів препарат використовують в співвідношенні з водою, наприклад, 1:50 відповідно.

Препарат перспективний і досліджений на багатьох рослинах, наприклад, тютюн, льон, бавовна, лікарські та кормові трави, квіти, кущі, плодово-ягідні, виноград, злакові, бобові.

Препарат, що представляється, стимулює пророщування насіння, фотосинтез рослин, транспорт речовин, формоутворюючі процеси, наприклад покращує розмір та форму плодів, сприяє стійкості рослин до нестачі вологи, високих та низьких температур, до підвищених доз мінеральних добрив, сприяє створенню системи захисту від патогенів та шкідників. А також має багатосторонній позитивний вплив на властивості ґрунту, покращує його фізико-хімічні та біологічні характеристики, має також важливу перевагу - не містить насіння бур'янів, має комплексний позитивний вплив на розвиток рослинно-

бактеріальних асоціацій. Також сприяє зниженню надходження нітратного азоту в рослини та плоди з ґрунту та ґрунтових вод. Дослідження, що проводились в зонах забруднених викидами промислових підприємств, наприклад, степні райони АР Крим та постраждалих від ЧАЕС, доказують перспективність застосування бактерійного препарату, що представляється, з метою отримання екологічно чистої сільськогосподарської продукції в забруднених районах. Препарат стабільний та однорідний, не токсичний, не мутагенний, не канцерогенний, екологічно чистий та безпечний у використанні.

Зберігають отриманий, таким чином бактерійний препарат при температурі 18-25°C - до чотирьох тижнів, а в холодильнику при 5-7°C (без заморожування) - до шести місяців.

Запропонований спосіб є придатним для промислового використання і може знайти широке застосування на різних підприємствах сільськогосподарської промисловості незалежно від масштабів виробництва.