



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **101388** (13) **C2**  
(51) МПК (2013.01)  
**C05F 11/00**  
**C12P 39/00**

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**

<b>(21)</b> Номер заявки: <b>а 2011 02210</b>	<b>(72)</b> Винахідник(и): <b>Титова Людмила В'ячеславівна (UA),</b> <b>Леонова Наталія Осипівна (UA),</b> <b>Бровко Ірина Степанівна (UA),</b> <b>Іутинська Галина Олександрівна (UA)</b>
<b>(22)</b> Дата подання заявки: <b>25.02.2011</b>	<b>(73)</b> Власник(и): <b>ІНСТИТУТ МІКРОБІОЛОГІЇ І ВІРУСОЛОГІЇ</b> <b>ІМ. Д.К. ЗАБОЛОТНОГО НАЦІОНАЛЬНОЇ</b> <b>АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ,</b> вул. Заболотного, 154, МСП, м. Київ, 03680 (UA)
<b>(24)</b> Дата, з якої є чинними права на винахід: <b>25.03.2013</b>	<b>(74)</b> Представник: <b>Піскова Олена Вілліївна, реєстр. №289</b>
<b>(41)</b> Публікація відомостей про заявку: <b>10.05.2012, Бюл.№ 9</b>	<b>(56)</b> Перелік документів, взятих до уваги експертизою: RU 2322061 C2, 20.04.2008. EP 1922928 A1, 21.05.2008. SU 1824384 A1, 30.06.1993. UA 81577 C2, 10.01.2008. UA 69993 A, 15.09.2004. UA 86178 C2, 10.04.2009. UA 36704 U, 10.11.2008.
<b>(46)</b> Публікація відомостей про видачу патенту: <b>25.03.2013, Бюл.№ 6</b>	RO 115453 B1, 28.02.2000, реферат.

**(54) КОМПЛЕКСНИЙ МІКРОБНИЙ ПРЕПАРАТ ЕКОВІТАЛ ДЛЯ ІНОКУЛЯЦІЇ НАСІННЯ БОБОВИХ КУЛЬТУР**

**(57) Реферат:**

Винахід належить до комплексного бактеріального препарату на основі штамів бульбочкових бактерій, специфічних до бобової рослини-хазяїна (родина Bradyrhizobiaceae або Rhizobiaceae), та фосфатмобілізуєчих бактерій *Bacillus megaterium* IMB B-7168, для інокуляції насіння бобових культур, при співвідношенні 1:1, які використовуються для підвищення врожайності бобових культур. При створенні винаходу застосовують культуральну рідину специфічних ризобій (*Bradyrhizobium japonicum* IMB B-7242, *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* IMB B-7333) з концентрацією клітин не менше  $2,0 \cdot 10^9$  кл/мл та культуральну рідину *Bacillus megaterium* IMB B-7168 з концентрацією клітин не менше  $1,0 \cdot 10^9$  кл/мл.

UA 101388 C2



Винахід належить до сільськогосподарської мікробіології та біотехнології, а саме до мікробних препаратів, які використовуються для підвищення врожайності бобових культур. Винахід стосується комплексного мікробного препарату на основі специфічних ризобій - мікросимбіонтів бобових рослин та фосфатмобілізувальних бактерій роду *Bacillus*.

На сучасному етапі розвитку землеробства одним з найважливіших завдань є збільшення виробництва рослинницької продукції підвищеної якості. Перспективним напрямком вирішення цього завдання є застосування нових ефективних і екологічно безпечних регуляторів росту і розвитку рослин та мікробних препаратів, здатних спрямовано регулювати процеси життєдіяльності рослин та ґрунтової мікрофлори, мобілізувати потенційні можливості, закладені у геномі рослин природою і селекцією. Важливою при цьому є інтенсифікація окремих біологічних процесів у прикореневому ґрунті, спрямованих на забезпечення рослинного організму необхідними для живлення сполуками та фізіологічно активними речовинами. Коріння рослин знаходиться в оточенні ґрунтових мікроорганізмів, що є трофічними посередниками між ґрунтом та рослиною. Саме мікроорганізми можуть забезпечити оптимальне живлення рослин, що залежить від наявності поживних речовин у ґрунті та їх доступності. Рослина в асоціації з комплексом агрономічно корисних мікроорганізмів здатна одержувати повноцінне живлення і реалізувати свій потенціал продуктивності. У зв'язку з цим виникає необхідність у розробці заходів, спрямованих на збільшення чисельності та активності агрономічно цінних мікроорганізмів у кореневій зоні рослин, чого потребують практично усі агроценози. Одним з таких заходів є використання мікробних препаратів в технологіях вирощування культурних рослин. Мікробні препарати знаходять широке застосування у способах інтенсифікації росту сільськогосподарських рослин, покращення їх живлення, боротьби з фітопатогенними мікроорганізмами, а також шкідниками сільськогосподарських культур. Більшість створюваних мікробних препаратів призначені для покращення азотного та фосфорного живлення рослин.

При цьому використання комплексних мікробних препаратів на основі асоціацій двох чи декількох штамів є перспективним напрямком у технологіях вирощування сільськогосподарських культур. Особливої уваги заслуговують препарати комплексної дії, до складу яких входять асоціації та консорціуми мікроорганізмів різних родів та видів, взаємопов'язана активність яких дозволяє досягти досить високих результатів. Зокрема, перспективною у цьому зв'язку є інокуляція сільськогосподарських культур консорціумами, до складу яких входять мікроорганізми, що виявляють азотфіксувальну активність, та фосфатмобілізувальні мікроорганізми. З одного боку, такі асоціації, інтродуковані у кореневу систему рослин, здатні забезпечувати рослини біологічним азотом, а з іншого боку, поліпшують фосфорне живлення рослин за рахунок перетворення важкорозчинних ґрунтових фосфатів у розчинні форми. Проте розробка таких штучних асоціацій є досить складною, оскільки потребує індивідуального підбору мікроорганізмів для комплексної бактеризації в залежності від виду бобових культур.

Є відомим препарат для обробки бобових та злакових культур, що містить манітно-дріжджове середовище, азотфіксувальні бактерії *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*, *Enterobacter* sp., *Bradyrhizobium* sp. (*Lupinus*), біогенні поверхнево-активні речовини (біоПАР), які вибрані з рамноліпідів, трегалозоліпідів та біокомплексу, і мінерал глауконіт (патент на корисну модель UA36704, опубл. 10.11.2008). При інокуляції рослин запропонованим препаратом спостерігали стимуляцію бульбочкоутворення та азотфіксувального потенціалу, за рахунок чого підвищувався врожай зеленої маси. Проте вказаний препарат, який включає азотфіксувальні мікроорганізми, є досить дорогим для виробництва за рахунок наявності в його складі цілого ряду біологічно активних сполук (біогенних поверхнево-активних речовин рамноліпідів, трегалозоліпідів або біокомплексу, а також мінералу глауконіту). Крім того, ефективність вказаного препарату перевірена у вегетаційних дослідках лише на біомасі рослин вики озимої, люцерни, ярого ячменю, а не на їх врожаї, і тільки для сої було встановлено зростання урожаю на 12-14 % у польових умовах. Запропонований нами препарат забезпечує більшу ефективність і зростання продуктивності бобових культур, що встановлено польовими випробуваннями.

На Україні є запатентованим препарат на основі мікроорганізмів для обробки ґрунту та насіння, який включає культуру *Azotobacter vinelandii* spp. M657 (NCAIM/P/B 001292) у кількості  $5 \times 10^6 - 10^{11}$ , переважно  $10^7 - 10^{10}$  клітин/га, і необов'язково, один або більше з наступних мікроорганізмів: *Azospirillum brasilense* ssp. SW51 (NCAIM/P/B 001293); *Pseudomonas fluorescens* var. SW11 (NCAIM/P/B 001296); *Bacillus polymyxa* var. SW17 (NCAIM/P/B 001295); *Bacillus megaterium* var. M326 (NCAIM/P/B 001291), *Micrococcus roseus* ssp. (NCAIM/P/B 001294); *Bradyrhizobium japonicum* var. PH25 (NCAIM/P/P 001302); *Streptomyces albus* var. 0003 LP (NCAIM/P/B 001301) [патент UA86178, опубл. 10.04.2009]. Описане вище технічне рішення вибрано авторами як прототип запропонованого винаходу. Зазначений препарат дозволяє

підвищити врожайність пшениці, кукурудзи та цукрового буряка, практично виключаючи застосування дорогих добрив. Проте винахід згідно з UA86178 не стосується підвищення урожаю бобових культур. У патенті вказано лише на ефективність застосування ризобій сої *Bradyrhizobium japonicum* var. PH25 (NCIM/P/P 001302) для інокуляції люцерни (не специфічної рослини-хазяїна для цих ризобій) з метою підвищення виходу біомаси рослини в умовах вегетаційного досліду.

Задачею даного винаходу є підвищення урожайності бобових культур за рахунок стимуляції ефективності функціонування бобово-ризобіального симбіозу.

Вказана задача вирішується шляхом створення комплексного бактеріального препарату Ековітал для інокуляції насіння бобових культур на основі штамів бульбочкових бактерій, специфічних до бобової рослини-хазяїна (родини *Bradyrhizobiaceae* або *Rhizobiaceae*), та фосфатмобілізувальних бактерій *Bacillus megaterium* IMB B-7168 (УКМ B-5724). При цьому застосовують суміш (1:1) культуральної рідини специфічних ризобій з концентрацією клітин не менше  $2,0 \cdot 10^9$  кл/мл та культуральної рідини *Bacillus megaterium* IMB B-7168 з концентрацією клітин не менше  $1,0 \cdot 10^9$  кл/мл.

Культуральна рідина кожного із штамів містить життєздатні бактерії, залишки поживних середовищ, в яких вони вирощувалися, біологічно активні речовини (вітаміни, фітогормони, органічні кислоти, амінокислоти та ін.) - продукти життєдіяльності цих бактерій. Фосфатмобілізувальний штам *Bacillus megaterium* IMB B-7168 забезпечує рослини доступними сполуками фосфору за рахунок активної мінералізації органічних фосфорвмісних сполук, а бактерії родини *Bradyrhizobiaceae* або *Rhizobiaceae* здатні фіксувати азот із атмосфери, забезпечуючи ним рослини. Дія препарату базується на сумісній дії штамів фосфатмобілізувальних мікроорганізмів та бульбочкових бактерій, що, очевидно, здатні до взаємної активації один одного. За рахунок цього досягається підвищення ефективності як засвоєння азоту з атмосферного повітря та трансформації його в доступні для рослини форми, так і активація метаболічного перетворення важкорозчинних ґрунтових фосфатів у розчинні форми, що веде до збільшення накопичення рослинами додаткового фосфору, калію, протеїну. Запропонований препарат характеризується підвищеною ефективністю щодо збільшення врожайності та є зручним для одержання. Препарат застосовують з метою прискореного росту рослин, підвищення рівня врожаю та поліпшення його якості, зниження негативної дії азотних мінеральних добрив і для сприяння біологічному "оздоровленню" ґрунтів, відновленню їх родючості.

Як один з компонентів запропонованого згідно з винаходом препарату використовують штами бульбочкових бактерій, специфічні для рослини-хазяїна, які вибирають з мікроорганізмів родини *Bradyrhizobiaceae* та *Rhizobiaceae*. Так, для інокуляції насіння сої застосовували штам *Bradyrhizobium japonicum* з депозитним номером IMB B-7242 (УКМ B-6018), який був одержаний методами аналітичної селекції з бульбочок культурної сої сорту Нива, яку вирощували на сірому опідзоленому ґрунті з pH 4,7 та 2,03 % гумусу (с. Бохонки Вінницької області).

Культурально-морфологічні та фізіолого-біохімічні особливості штаму *Bradyrhizobium japonicum* IMB B-7242: клітини 5-7-добової культури штаму IMB B-7242 мають паличкоподібну форму розміром 0,6-0,8 мкм у ширину та 1,2-3,0 мкм у довжину. Клітини рухомі завдяки наявності полярного джгутика (монотрих). Культура грамнегативна, спор не утворює. Аероб. При посіві штрихом на агаризоване горохове середовище з глюкозою та манітом ріст бактерій слабкий, штрих білуватий, слизистий. За фізіологічними властивостями штам належить до бульбочкових бактерій з повільним ростом, колонії з'являються на поверхні агару на 7-8 добу. Вони мають округлу форму, опуклі, блискучі, слизисті, в діаметрі 1-1,2 мм. Біля колоній на поверхні агару може утворюватися райдужний ореол. Не утворює пігментів, молоко з лакмусом підлюговує, не пептонізує, желатину не розріджує. На середовищах з органічним азотом (МПА) штам не росте, але добре розвивається на поживних середовищах із солями амонію. Штам має активну нітратредуктазу і відновлює нітрати, засвоює глюкозу, фруктозу, галактозу, мальтозу, маніт, дульцит. Крохмаль не гідролізує. Сахарозу засвоює слабо. Штам не чутливий до антибактеріальної дії екстрактивних речовин з оболонки насіння ряду сортів сої. Характеризується пектиназною активністю та стійкістю до низького pH та умов недостатнього зволоження. Витримує забруднення важкими металами: Pb-30 ГДК, Cu-20 ГДК, Zn-20 ГДК, Cd-10 ГДК, суміш металів - 7 ГДК.

Температурний інтервал росту штаму 18-36 °C, температурний оптимум 26-28 °C. Ріст бактерій спостерігається в діапазоні pH від 4,7 до 8,5. Оптимум pH 6,5-7,5. Ознаки штаму стійкі. Штам технологічний, не патогенний для людини та теплокровних тварин.

Культуру зберігають на манітно-дріжджовому агарі або на бобовому агарі з манітом чи глюкозою при температурі 4-6 °C.

Штам утворює активні бульбочки на різних сортах сої. У порівнянні з еталоном дає прибавку врожаю зерна на рівні 6-15 % (21-37 % до контролю) при одночасному збільшенні вмісту білку у зерні

Таблиця 1

Вплив інокуляції насіння сої штамом *B. japonicum* IMB B-7242

Сорт сої	Прибавка урожаю, %	
	до контролю	до штаму еталону
Київська 27	37,0	15,0
Чорнобура	21,0	8,0
Чорнобура	33,1	6,1

5

Генетичні особливості штаму: прототроф, чутливий до антибіотиків. При культивуванні фаголізису не виявлено.

Спосіб, умови та склад середовища для культивування штаму: середовище для маточної культури: 1) 10 %-ний відвар борошна пророслого гороху - 1 л, глюкоза - 10 г, сахароза - 2,5 г, сульфат амонію - 1 г, сульфат магнію - 0,2 г, карбонат кальцію - 1 г, ортофосфати калію по 0,5 г, рН 6,8-7,2; 2) маніт - 10 г, калій фосфорнокислий 2-заміщений - 0,5 г, сульфат магнію - 0,2 г, натрій хлористий - 0,1 г, глюконат кальцію - 1,5 г, хлорид заліза - 0,01 г, дріжджовий екстракт - 2 г, рН 6,8-7,2. Середовище для промислового культивування: кукурудзяний екстракт - 7 г, дріжджі пекарські - 0,5 г, глюкоза - 12-15 г, сульфат амонію - 1,0 г, фосфат калію триводний - 0,35 г, сульфат магнію - 0,2 г, карбонат кальцію - 1 г, водопровідна вода - 1 л.

Для інокуляції насіння вики ярої використовували штам *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* з депозитним номером IMB B-7333, який одержували методами аналітичної селекції з бульбочок вики ярої.

Клітини 2-3 добової культури штаму мають паличковидну форму розміром 0,6 мкм в ширину та 3,5 мкм в довжину. У молодому віці палички рухомі (перитрих). Культура грамнегативна, спор не утворює. Аероб. При посіві штрихом на бобовий агар культура дає слизистий, молочно-білий ріст. За фізіологічними властивостями штам відноситься до швидкорослих бульбочкових бактерій, колонії з'являються на поверхні агару на 2-3 добу. Колонії поверхневі, блискучі, слизові, молочно-кольору, з рівними краями, діаметром не більше 5 мм. З віком колонії зслизують і розтікаються. Культура пігментів не утворює, молоко з лакмусом підлогує, утворюючи сироваткову зону у вигляді кільця, желатину не розріджує. Добре росте на глюкозі, сахарозі, лактозі, мальтозі, манозі, фруктозі, галактозі і маніті. Слабше на гліцерині і сорбіті з утворенням кислоти. Крохмаль не засвоює.

Температурний інтервал росту штаму - від 18 до 36 °С, температурний оптимум - 26-28 °С. Оптимум рН - 6,8-7,2. Ознаки штаму стійкі. Він не патогенний і не токсичний. Культуру зберігають на бобовому агарі з сахарозою при температурі 4-6 °С, пересіваючи 1 раз у 6 місяців.

Штам утворює активні бульбочки на корінні вики. Технологічний. Має широку сортову специфічність і високу екологічну пристосованість.

Спосіб, умови та склад середовища для культивування штаму: бобове середовище для маточної культури (г/л водопровідної води): горох - 100,0; сахароза - 20,0; NaCl-0,1; рН середовища - 6,8-7,2.

Стерильні качалочні колби ємністю 750 мл заповнюють середовищем на одну третину (250 мл) і стерилізують в автоклаві при 0,5 атм 30 хв.

Середовище для промислового культивування: кукурудзяний екстракт - 7,0 г, дріжджі пекарські - 0,5 г, глюкоза - 12,0-15,0 г, сульфат амонію - 1,0 г, фосфат калію двозаміщений триводний - 0,35 г, сульфат магнію - 0,2 г, карбонат кальцію - 1,0 г; водопровідної води - 1 л, рН середовища - 6,8-7,2.

Використовуваний у винаході фосфатмобілізувальний штам *Bacillus megaterium* з депозитним номером IMB B-7168 був одержаний методами аналітичної селекції з чорноземного ґрунту (Національний виставковий центр, м. Київ, Київська обл.).

Культурально-морфологічні та фізіолого-біохімічні особливості штаму *Bacillus megaterium* IMB B-7168: культура грампозитивна. Клітини паличкоподібні розміром 0,9-1,5×2,0-5,0 мкм з овальними кінцями та зернистим вмістом. Розміщуються поодинокі, попарно та скупченнями неправильної форми. Утворюють ендоспори еліпсоподібної форми. Розміщення спор центральне. Культура має високу ростову активність і здатна продукувати фосфатази. Активно

мінералізує органічні фосфорвмісні сполуки. Штам проявляє антагоністичні властивості відносно фітопатогенних бактерій *Pseudomonas syringae* та *Erwinia caratovora*.

Штам добре росте на м'ясо-пептонному агарі, синтетичному середовищі з орґанофосфатами і картопляно-мінеральному агарі Одоєвської наступного складу:  
5 водопровідна вода - 900 мл, картопляний відвар - 100 мл, 1 %-ний розчин фенолу - 40 мл, глюкоза - 3,0 г,  $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$  - 0,1 г, NaCl-0,1 г, KCl-0,1 г,  $(NH_4)SO_4$ -0,2 г, агар - 15-20 г, крейда - в осаді, pH середовища - 7,0.

Колонії на середовищі Одоєвської опуклі, слизисті, з рівним краєм. Забарвлення сірувато-біле. В лабораторних умовах культура пересівається двічі на рік. Штам технологічний.

10 Санітарно-гігієнічні властивості: *Bacillus megaterium* є представником нормальної мікрофлори родючих ґрунтів. Запропонований штам не токсичний і не патогенний для людини і теплокровних тварин.

Продукти, що синтезуються штамом: фосфогідролази, рістстимулювальні речовини типу фітогормонів, вітаміни групи В та органічні кислоти.

15 Фосфатазна активність штаму становить від 190 до 340 мкМ фенолфталейнофосфату на 1 г біомаси за 1 годину. Штам стійкий до хлорорганічних сполук, здатний розкласти ацетохлор.

Генетичні особливості штаму: прототроф, не чутливий до хлорорганічних сполук.

20 Спосіб, умови та склад середовища для культивування штаму: склад регламентного середовища для виробництва біопрепарату для обробки насіння, г/л: NaCl-0,3, KCl-0,3,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ -0,3,  $(NH_4)_2SO_4$ -0,5, крейда - 3,5, кукурудзяний екстракт - 6,0, меляса - 6,0, рибажний жир - 0,3, водопровідна вода - 1,0 л, pH середовища - 7,0.

25 Комплексний бактеріальний препарат Ековітал для інокуляції насіння бобових культур готували наступним чином. Для цього культуру штаму ризобій вирощували протягом 4-7 діб (*Bradyrhizobium japonicum*) та 3-4 діб (*Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*) на середовищах описаного вище складу до концентрації клітин не менше 2-10 клітин/мл. Штам *Bacillus megaterium* IMB B-7168 вирощували протягом 3 діб на зазначеному вище середовищі до концентрації клітин не менше 1-10 клітин/мл. Змішували культуральні рідини обох штамів у співвідношенні 1:1. Препарат використовували у рідкій формі. Препарат є світло-жовтою рідиною. Препарат зберігають за температури не вище +15 °С.

30 Наведені нижче приклади призначені для ілюстрації та пояснення запропонованого винаходу та не є такими, що обмежують його будь-яким чином. Для підтвердження ефективності заявленого комплексного бактеріального препарату були проведені досліді при його використанні для інокуляції насіння сої та вики ярої.

Приклад 1

35 Дослідження проводили у Черкаській області на типових опідзолених і деградованих малогумусних чорноземах при використанні сої сорту Романтика. В експериментах вивчали вплив запропонованого комплексного бактеріального препарату та еталонного препарату (нітрагін) (Перелік пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні: Довідник для фахівців сільського господарства. - Київ: ЮНІВЕСТ МЕДІА, 2008.-448 с.) на фізіолого-біохімічні показники та продуктивність сої. Для цього проводили передпосівну інокуляцію насіння сої шляхом змочування його запропонованим бактеріальним препаратом (норма витрати становила 100 мл/га), еталонним препаратом нітрагін (норма витрати становила 100 мл/га) та водою (контроль).

45 Досліді закладали методом рендомізованих повторностей. Повторність досліді -трикратна. Площа облікових ділянок - 40 м<sup>2</sup>. При цьому визначали площу листової поверхні рослин методом висічок, масу сирих листків та стебел - зважуванням. Крім того, оцінювали вміст хлорофілу в листках. Облік врожаю здійснювали шляхом суцільного збирання комбайном "Сампо" з подальшим зважуванням. При оцінці якості зерна визначали масу 1000 зерен. Дані дослідження приведені у таблицях 2-4.

Таблиця 2

Вплив передпосівної інокуляції насіння на вміст хлорофілу в листках рослин сої сорту Романтика

Варіанти обробки	Вміст хлорофілу	
	мг/г сухої маси	% до контролю
Фаза бутонізації		
Контроль	1,1	100,0
Нітрагін (еталон)	1,2	109,1
Запропонований препарат	1,4	127,3

Продовження таблиці 2

Фаза наливу бобів		
Контроль	1,3	100,0
Нітрагін (еталон)	1,5	115,4
Запропонований препарат	1,6	123,1

Таблиця 3

Вплив передпосівної інокуляції насіння на формування асиміляційної поверхні рослин сої сорту Романтика (фаза наливу бобів)

Варіанти обробки	Кількість листя з 1-єї рослини		Площа пластинки листка з 1-єї рослини		Площа листків на 1 га	
	шт.	% до контролю	см <sup>2</sup>	% до контролю	м <sup>2</sup>	% до контролю
Контроль	8,7	100,0	536,1	100,0	30289,7	100,0
Нітрагін (еталон)	9,0	103,4	638,7	119,1	36664,4	121,0
Запропонований препарат	17,5	201,1	801,7	149,5	46658,9	154,0

Таблиця 4

Вплив передпосівної інокуляції на врожай сої сорту Романтика

Варіанти обробки	Врожай зерна, ц	% до контролю	Прибавка врожаю, ц/га	% до контролю	Маса 1000 зерен, г	% до контролю
Контроль	13,8	100,0	-	-	124,4	100,0
Нітрагін (еталон)	16,2	117,4	2,4	17,4	127,8	102,7
Запропонований препарат	16,7	121,0	2,9	21,0	128,2	103,1
НІР <sub>0,05</sub>	1,94					

- 5 З приведених таблиць видно, що запропонований препарат сприяв більшому накопиченню фотосинтетичних пігментів у листках сої, ніж еталонний препарат нітрагін. Обробка насіння запропонованим комплексним бактеріальним препаратом сприяла активації процесів формування листового апарату сої. В фазу наливу бобів кількість листків на 1 рослині зростала вдвічі, а площа листків на одній рослині - на 50 % порівняно з контролем. Ці параметри були вищими, ніж у варіанті з еталонним препаратом, відповідно в 1,9 та 1,3 рази.
- 10 При обробці насіння запропонованим препаратом підвищувалася врожайність сої на 21,0 % порівняно з контролем.

#### Приклад 2

- 15 Дослідження проводили у Житомирській області на дерново-підзолистих легко суглинкових ґрунтах при використанні вики ярої сорту Ізіда. В експериментах вивчали вплив запропонованого комплексного бактеріального препарату на продуктивність вики. Для цього проводили передпосівну інокуляцію насіння вики шляхом змочування його запропонованим бактеріальним препаратом (норма витрати становила 100 мл/га та водою (контроль). Проводили облік урожаю зерна вики ярої (таблиця 5).

20

Таблиця 5

Вплив комплексного мікробного препарату на продуктивність вики ярої сорту Ізіда

Варіанти обробки	Урожай, ц/га	Прибавка	
		ц/га	% до контролю
Контроль (без інокуляції)	19,0	-	-
Запропонований препарат	22,0	3,0	16,0
НІР <sub>0,05</sub>	0,28		

Обробка насіння вики ярої запропонованим комплексним бактеріальним препаратом сприяла збільшенню урожаю зерна на 16 % у порівнянні з контролем.

### Приклад 3

Проводили також дослідження комплексного бактеріального препарату у польовому досліді на ділянках Інституту агроєкології УААН на сірих лісових супіщаних слабоглеуватих ґрунтах на перемитій карбонатній супіщаній морені у 2008 році та у 2009 році. У досліді використовували запропонований препарат, нітрагін (еталон) та контроль (без інокуляції). Експерименти проводили на сорті сої Горлиця. Досліджуваними показниками ефективності були врожайність культури, вміст білка у зерні та родючість ґрунту. Дані представлені у таблиці 6.

З наведених даних видно, що застосування запропонованого комплексного бактеріального препарату забезпечило збільшення врожаю сої сорту Горлиця у порівнянні з еталоном на 2,9 ц/га (12,6 %) при одночасному збільшенні вмісту білка у зерні на 0,5 %. Спостерігали також покращення показників родючості ґрунту. Якщо вміст азоту, що легко гідролізується, однаково зростає у варіантах з моно- та бінарною інокуляцією порівняно з контрольним варіантом без інокуляції, то вміст рухомого фосфору у варіанті з еталоном зростає на 14,3 %, а у варіанті з запропонованим препаратом - на 51,8 % порівняно з контролем. Спостерігали також тенденцію до зростання вмісту в ґрунті обмінного калію у дослідному варіанті порівняно з варіантом традиційної моноінокуляції (штам-еталон). При цьому у варіанті з еталоном вміст обмінного калію зростає на 13,3 %, а у варіанті з запропонованим препаратом - на 15,6 %.

Таблиця 6

Вплив передпосівної інокуляції сої сорту Горлиця на врожайність та показники родючості ґрунту

Варіанти обробки	Урожай, ц/га	Вміст білка у зерні, %	Показники родючості ґрунту (фаза збору врожаю)		
			вміст азоту, що легко гідролізується, мг/кг	вміст рухомого фосфору, мг/кг	вміст обмінного калію, мг/кг
Контроль(без інокуляції)	22,0	36,1	40	112	90
Нітрагін (еталон)	23,1	36,8	46	128	102
Запропонований препарат	26,0	37,3	46	170	104
НІР <sub>0,05</sub>	0,32				

### ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Комплексний мікробний препарат для інокуляції насіння бобових культур на основі штамів бульбочкових та фосфатмобілізуювальних бактерій, який **відрізняється** тим, що включає культуральну рідину бульбочкових бактерій, специфічних до бобової рослини-хазяїна, вибраних з групи, яка включає родини Bradyrhizobiaceae та Rhizobiaceae, та фосфатмобілізуювальних бактерій Bacillus megaterium IMB B-7168, при їх співвідношенні 1:1, при цьому культуральна рідина специфічних ризобій має концентрацію клітин принаймні  $2,0 \cdot 10^9$  кл/мл, а культуральна рідина Bacillus megaterium IMB B-7168 має концентрацію клітин принаймні  $1,0 \cdot 10^9$  кл/мл.

2. Комплексний мікробний препарат згідно з пунктом 1, який **відрізняється** тим, що бульбочкові бактерії є вибраними з групи, яка включає штам Bradyrhizobium japonicum IMB B-7242 та штам Rhizobium leguminosarum bv. viciae IMB B-7333.

3. Штам Bradyrhizobium japonicum IMB B-7242 для одержання комплексного мікробного препарату для інокуляції насіння бобових культур.

4. Штам Rhizobium leguminosarum bv. viciae IMB B-7333 для одержання комплексного мікробного препарату для інокуляції насіння бобових культур.

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