

(19) C2 (11) 65639 (13) UA

(98) вул. В. Арнаутська, 19, м. Одеса, 65012

(85) null

(74) null

(45) [2004-04-15]

(43) [2002-12-16]

(24) 2004-04-15

(22) 2001-05-04

(12) null

(21) 2001053036

(46) 2004-04-15

(86)

(30)

(54) ЗАСІБ ДОПОСІВНОЇ ОБРОБКИ НАСІННЯ І РОСЛИН "БІОГЕТ" І СПОСІБ ЙОГО ОТРИМАННЯ СРЕДСТВО ПРЕДПОСЕВ
НОЙ ОБРАБОТКИ СЕМЯН И РАСТЕНИЙ "БИОГЕТ" И СПОСОБ ЕГО ПОЛУЧЕНИЯ "BIOGET" PRESOWING SEED AND PLANT TRE
ATMENT AND A METHOD OF OBTAINING THEREOF

(56) "Производство и применение биологических средств защиты растений от вредителей и болезней." Материалы Междун. научно-практич
еской конф., Одесса, 1994, с.87. З Різоплан. ТУ 12.43.47-98. З SU 1817874 АЗ 20.05.95 1

(71)

(72) UA Акулінін Георгій Юхимович UA Акулінін Георгій Юхимович UA Акулінін Георгій Юхимович UA Старчевський
Юрій Ігоревич UA Старчевський Юрій Ігоревич UA Starchevskiy Yurii Ihorevych

(73) UA ІНЖЕНЕРНО-ТЕХНОЛОГІЧНИЙ ІНСТИТУТ "БІОТЕХНІКА" UA Инженерно-технологический институт «Биоте
хника» UA "BIOTEKNIKA", ENGINEERING AND TECHNOLOGICAL INSTITUTE

Способ получения средства предпосевной обработки семян и растений состоит в первичной инокуляции питательной среды посевными культурами *Pseudomonas fluorescens* и *Agrobacterium radiobacter* одновременно, а на середине фазы экспоненциального роста этих микроорганизмов добавляется объем питательной среды, который равен начальному, с одновременной ее инокуляцией посевной культурой *Enterobacter nimipressuralis* и продолжают культивирование до прекращения роста и максимального накопления бактериальной массы.

Средство предпосевной обработки семян, полученное таким способом, имеет фунгицидные и питательные свойства.

Спосіб одержання засобу допосівної обробки насіння та рослин полягає в первинній інокуляції живильного середовища посівними культурами *Pseudomonas fluorescens* і *Agrobacterium radiobacter* одночасно, а на середині фази експоненціального росту цих мікроорганізмів додається об'єм живильного середовища, що дорівнює початковому, з одночасною його інокуляцією посівною культурою *Enterobacter nimipressuralis* та продовжують культивування до припинення росту та максимального накопичення бактеріальної маси. Засіб допосівної обробки насіння одержаний за даним способом має фунгіцидні та живильні властивості.

A method of obtaining a presowing seed and plant treatment agent lies in the primary inoculation of a nutrient medium with sowing cultures of *Pseudomonas fluorescens* and *Agrobacterium radiobacter* simultaneously, and in the middle of the stage of exponential growth of these microorganisms added is a volume of the nutrient medium, which is equal to the starting one, with the simultaneous inoculation thereof with a sowing culture of *Enterobacter nimipressuralis* and the cultivation is prolonged up to the stopping the growth and maximum accumulation of the bacterial mass. The presowing seed treatment agent thus obtained has fungicidal and nutrient properties.

1. Спосіб одержання засобу допосівної обробки насіння та рослин, який **відрізняється** тим, що одночасно здійснюють інокуляцію живильного середовища посівними культурами мікроорганізмів *Pseudomonas fluorescens* (штам AP-33) та *Agrobacterium radiobacter* (штам 204), а на середині фази експоненціального росту (лог-фази) цих мікроорганізмів додають живильне середовище об'ємом, що дорівнює початковому, з одночасною його інокуляцією посівною культурою *Enterobacter nimipressuralis* (штам 32-3) та продовжують культивування до припинення росту (стаціонарної фази) та максимального накопичення бактеріальної маси.

2. Засіб допосівної обробки насіння та рослин, який **відрізняється** тим, що його одержують способом згідно з п. 1.

Винахід відноситься до сільського господарства, а саме до біологічних засобів захисту рослин та біологічних добрив і може використатися в технологіях вирощування сільськогосподарських культур.

Відомий спосіб допосівної обробки насіння шляхом його протруювання хімічними пестицидами, як то; контактними /гранозан, гексатіурам, вітавак/ та системними /байтан, байлетан та ін./ фунгіцидами, ефективність яких залежить від строків його проведення - за 1-15 днів до сівби [1].

Допосівну обробку насіння хімпрепаратами поєднують із застосуванням добрив /мінеральних або біодобрив/, але при цьому ефективність використання біологічних добрив /на основі азотфіксуючих та фосформобілізуючих мікроорганізмів/ зменшується до 60% при розбіжності термінів обробки насіння хімічними і біологічними препаратами до 20-30 діб.

Екологічно безпечні і не менш ефективні для захисту рослин такі біопрепарати, як різоплан, триходермін, Агат-25 та ін., як в чистому вигляді, так і у сумішах з іншими препаратами [2].

Відомий мікробіологічний препарат різоплан /на базі бактерій *Pseudomonas fluorescens* - штам AP-33/, який має фунгіцидні та бактерицидні властивості на рівні хімічних фунгіцидів [3].

Відомий мікробіологічний препарат різоагрін /на базі азотфіксуючих бактерій *Agrobacterium radiobacter* – штам 204/, який використовується в якості біологічного добрива [4].

Відомий мікробіологічний препарат /на базі фосфор мобілізуючих бактерій – штам 32-3/ [5]. Біопрепарат на базі двох останніх штамів /204 і 32-3/ використовують у якості біологічних добрив.

Відомо також про спосіб одночасної обробки насіння та рослин мікробіопрепаратами з різною специфічністю бактерій-продуцентів із різних таксономічних груп, що уявляють собою попередньо створену суміш, наприклад, препаратом Агат-25, який прийнято за прототип [6].

Агат-25 використовується для обробки насіння зернових, овочевих та технічних культур перед посівом та рослин під час їх активної вегетації.

Агат-25 - це суміш компонентів на засаді ґрунтових асоціативних бактерій *Pseudomonas*, азотфіксуючих бактерій R60, біостимуляторів, флавоноїдів та мікроелементів. Він екологічно чистий та не шкідливий до навколишнього середовища у порівнянні з хімічними препаратами.

Недоліком прототипу є значні енерго- та трудовитрати, пов'язані з одержанням мікробіологічних компонентів кожного окремо, наступним їх змішуванням та доданням інших складових.

Задача, яка вирішується в запропонованому винаході, полягав в створенні комплексного мікробного препарату поліфункціональної дії "Біовет", в якому поєднуються Фунгіцидна активність та властивості біодобрив. Це досягається тим, що вищезгадані мікроорганізми з різних таксономічних груп, а саме: штам AP-33 з фунгіцидною дією, штам 204 - азотфіксатор та фосформобілізуючий штам 32-3 при спільному культивуванні утворюють синергічну асоціацію мікроорганізмів із збереженням життєздатності кожного із складових компонентів.

Відібрані для створення засібу "Біовет" штами характеризуються однаковим типом метаболізму і несуттєво відрізняються один від іншого по оптимуму рН і швидкості росту, що дозволяє шляхом сумісного їх культивування одержати біопрепарат поліфункціональної дії.

Попередні дослідження взаємодії азотфіксуючих, фосфор-мобілізуючих та різосферних бактерій, як при механічному змішуванні, так і при спільному вирощуванні не виявили антогонізму між ними. Так, при спільному вирощуванні штамів 2С4 і AP-33 на агарізованому середовищі Виноградського не спостерігалось пригнічення культур одна одною. Теж відзначалося при рості цих мікроорганізмів на живильному середовищі Кінга. Не спостерігалось антагонізму і між культурами AP-33, 204 та 32-3 при їх спільному вирощуванні на твердому агарізованому середовищі. Перевірка здійснювалась методом лунки, перпендикулярних рисок та радіальним методом.

Таким чином, як змішування, так і спільне культивування агробактерій з фосформобілізуючими бактеріями, а також суміш азотфіксуючих мікроорганізмів з фосформобілізуючими бактеріями і різопланом /штам AP-33/ не призводило к суттєвим змінам значень для кожного із компонентів таких параметрів, як титр життєздатності клітин і біологічна активність.

Так, при змішуванні глибинних культур азотфіксатора /шт 204/ та псевдомонад /AP-33/ і зберіганні одержаної суміші протягом 5 діб життєздатність агробактерій і псевдомонад залишалася практично на початковому рівні /див. табл.1/.

Таблиця 1

Термін /строк/	Доби і титри культур				
	1	2	3	4	5
шт 204	$2,2 \cdot 10^9$	$2,0 \cdot 10^9$	$2,0 \cdot 10^9$	$1,8 \cdot 10^9$	$1,1 \cdot 10^9$
шт AP-33	$2,8 \cdot 10^9$	$2,5 \cdot 10^9$	$2,4 \cdot 10^9$	$2,3 \cdot 10^9$	$1,8 \cdot 10^9$
шт 204+MP-33	$4,2 \cdot 10^9$		$4,0 \cdot 10^9$	$3,7 \cdot 10^9$	$3,1 \cdot 10^9$

Для одержання засобу "Біовет" пропонується глибинний спосіб вирощування мікроорганізмів, які входять до його складу, на загальному живильному середовищі.

На першій стадії проводять інокуляцію живильного середовища посівними культурами мікроорганізмів з фунгіцидними /шт. AP-33/ та азотофіксуючими /шт 204/ властивостями одночасно, а і середині фази експоненціального росту /лог-фази/ цих мікроорганізмів додають живильне середовище об'ємом, рівним початковому, з одночасною інокуляцією його посівною культурою фосформобілізуючих бактерій 32-3, культивування продовжують до припинення росту /стаціонарної фази/ і максимального накопичення бактеріальної маси.

Запропонований спосіб одержання препарату "Біовет" ґрунтується на різниці у швидкостях росту бактерій /у псевдомонад термін подвоєння біомаси в порівнянні з шт 32-3 при рівних умовах вирощування в 2 рази більший/ та на різній чутливості до кисню, так як шт 32-3 на відміну від *Pseudomonas*, та *Agrobacterium* є

факультативний анаероб /див. графік на фіг.1/.

Приклад одержання засобу "Біовет":

Культивування здійснюють глибинним методом на шаровій гойдалці при температурі 28-30°C і початковій швидкості обертання 200об/хв.

Живильне середовище складалося з меласи /40г/л/, кукурудзяного екстракту /10г/л/, MgSO₄ /0,5г/л/ та K₂HPO₄ /1г/л/.

Культивування проводять у колбах Ерленмейера ємністю 1л з об'ємом живильного середовища 200мл. Підготовлені посівні культури штамів 204 та AP-33 заливають одночасно. Посівна доза складає 1% об'єму мікробної суспензії з титром 5.10⁹.

Культивування цих мікроорганізмів ведуть до середини фази експоненціального росту /лог-фази/, після чого доливають свіже живильне середовище об'ємом, рівним початковому, з одночасною інокуляцією посівною культурою штаму 32-3. Культивування продовжують при тих же режимах до припинення росту бактерій /стаціонарної фази/, при цьому сумарний титр бактерій досягає 8,8-9,2млрд. клітин в 1мл, а їх частки в асоціації становлять у відношенні 1:1:2.

Запропонований комплексний мікробіологічний препарат "Біовет" пригнічує ріст фітопатогенів – збудників фузаріозів, різних гнилей, що підтвердили лабораторні випробування при вирощуванні на агаризованих середовищах методом перпендикулярних рисок.

Польові випробування підтвердили як фунгіцидну дію препарату, так і його азотфіксуючі та фосфор мобілізуючі якості, що відображено у табл.2, 3 і 4.

Таблиця 2

Ефективність препарату
"Біовет" по схожості насіння пшениці

% схожості	Термін /доба/	5	6	7	8	9	10
	Контроль /б/о/	7	33	48	63	65	65
	Біовет	20	43	52	71	71	71

Таблиця 3

Фунгіцидна активність
препарату "Біовет" до гнилей зернових

Варіант	Ураження листя, %		
	F.oxysporum	F.moniliforul	F.graminlarum
Біовет	0	1,8	1,8
Контроль /б/о/	7,4	8,5	9,1

Таблиця 4

Ефективність
препарату "Біовет" у посівах ячменю

Варіант	Контроль /б/о/	Біовет	Різоплан	204	32-3
Кількість зерна	35,2	41,2	37,2	40,8	40,4

Результати польових випробувань свідчать, що допосівна обробка насіння препаратом "Біовет" дає вагомий добуток врожаю у порівнянні з використаними окремими біопрепаратами, що забезпечується синергічним ефектом створеної асоціації мікроорганізмів. Утворюється активна колонізація кореневої системи зростаючої рослини бактеріями, які пригнічують фітопатогени і сприяють засвоєнню рослинами азоту і важкодоступних сполучень фосфору.

Пропонуємо препарат "Біовет" і спосіб його одержання значно зменшує трудо- і енерговитрати і прискорює процес допосівної обробки насіння.

Джерела інформації

- Захист зернових культур від шкідників, хвороб і бур'янів при інтенсивних технологіях: За ред. Б.А.Арешнікова. - К.: Урожай, 1992.
- Вошедский Н.Н. Биопрепараты - средства защиты растений от вредных насекомых и болезней. Тез. Междун. конф. "Биотехнологии - народному хозяйству 2000". АООТ "Биохиммаш", Москва, 2000, с.66-67.
- Різоплан. ТУ 12.43.47-98.
- А.с. 1621433. Штамм бактерий *Agrobacterium radiobacter* для производства бактериального удобрения под рис и пшеницу, вид. 15.09.90г.
- Аграрний вісник Причорномор'я. Збірник наукових праць, 1999, №3/6/, ч.1, част.1: Агрономія, с.180.
- Производство и применение биологических средств защиты растений от вредителей и болезней. Материалы Междун. научно-практической конф., Одесса, 1994, с.87.

