



УКРАЇНА

(19) UA (11) 21012 (13) A

(51)6 C 05 F 11/08; C 12 R 1/41

ДЕРЖАВНЕ
ПАТЕНТНЕ
ВІДОМСТВООПИС ДО ПАТЕНТУ
НА ВІНАХІДбез проведення експертизи по суті
на підставі Постанови Верховної Ради України
№ 3769-XII від 23.XII 1993 р.Публікується
в редакції заявника(54) ШТАМ БАКТЕРІЙ RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ БАКТЕРІАЛЬНОГО
ДОБРИВА ПІД ГОРОХ

1

(21) 93006126

(22) 13.07.93

(24) 07.10.97

(46) 27.02.98. Бюл. № 1

(47) 07.10.97

(72) Старченков Юхим Полікарпович, Манд-
ровська Наталія Михайлівна, Нічик Майя
Михайлівна, Кругова Олена Дмитрівна, Ос-

2

тапенко Дмитро Дмитрович, Кримська Ольга
Миколаївна, Цимбал Ганна Степанівна(73) Інститут фізіології рослин і генетики
НАН України(57) Штамм бактерій *Rhizobium*
leguminosarum № 2636 (Национальная кол-
лекция клубеньковых бактерий ВНИИСХМ)
для получения бактериального удобрения под
горох.

Изобретение относится к сельскому хо-
зяйству, а именно к микробиологическим
средствам повышения урожая бобовых куль-
тур и представляет собой новый штамм
Rh.leguminosarum № 263 б, предназначен-
ный для промышленного изготовления бак-
териального препарата клубеньковых
бактерий - ризоторфина под горох.

Известен штамм *Rh.leguminosarum* 250 б
как активный симбиотический азотфиксатор,
однако он обладает низкой эффективностью
[Авт.св. СССР № 979307, кл. C 05 F 11/08, 1982].

Известен штамм *Rh.leguminosarum* 250
а [Авт.св. СССР № 489750, кл. C 05 F 11/08,
1975], выбранный авторами в качестве про-
тотипа, который увеличивает урожай зерна
гороха на 1 ц/га и содержание белка на
0,4%. Недостатком известного штамма яв-
ляется неспособность образовывать клу-
беньки при пониженных плюсовых
температурах, низкая активность и часто от-
сутствие эффекта от обработки семян гороха
этим штаммом.

Задачей изобретения является созда-
ние бактериального удобрения под горох на
основе нового штамма клубеньковых бакте-
рий *Rh.leguminosarum* № 263 б, который
имеет высокую азотфиксирующую актив-
ность и образует клубеньки при понижен-
ных плюсовых температурах, что
позволяет продлить период активной азот-
фиксации, увеличить урожай гороха за счет
экологически чистого симбиотрофного пита-
ния.

Штамм *Rh.leguminosarum* 263 б получен
в 1986 г. в отделе симбиотической азотфик-
сации ИФРГ АН Украины методом экспери-
ментальной селекции при использовании
низких положительных температур, как се-
лектирующего фактора. Полученный нами
штамм депонирован в национальной Кол-
лекции клубеньковых бактерий Всеросий-
ского научно-исследовательского института
сельскохозяйственной микробиологии под
номером 263 б в группе азотфиксирующих
микроорганизмов.

(19) UA (11) 21012 (13) A

Штамм клубеньковых бактерий № 263 б характеризуется следующими культурально-морфологическими признаками: культура бактерий - неспороносная, грамотрицательная, подвижная. Размер клеток 0,8-2,5 мкм. Клетки имеют палочковидную форму, перетрихи. На бобовом агаре Мазе (г/л - горох - 100,0, NaCl - 1,0, сахара - 20,0, агар - 18, вода до 1 л, pH 6,8-7,0) на 3 сутки роста штрихом образует блестящие беловатые колонии диаметром 0,1-0,3 см. При температуре инкубации 27°C культура образует интенсивный рост и интенсивную внеклеточную бесцветную полисахаридную слизь.

На маннитно-дрожжевом агаре (г/л - дрожжевой экстракт - 1,0, маннит 10,0 K_2HPO_4 - 0,5, M 04-0,2, NaCl - 0,1, агар 15-18, вода дистиллированная 1 л, pH 7,0) культура образует однотипные круглые, слизистые, выпуклые, беловатые колонии размером до 0,4 см. Температура инкубации 27°C.

В отличие от штамма-прототипа культура клубеньковых бактерий № 263 б может расти на питательной среде при пониженных плюсовых температурах 8-10°C, образовывать клубеньки на 5. дней раньше, чем штамм-прототип, а также имеет более высокую азотфиксирующую активность и эффективность. Физиолого-биохимические признаки. Аэроб, температурный диапазон роста 8-28°C, оптимальная температура 18-27°C роста. Оптимум pH - 7,0-7,2. Желатину не разжижает. Молоко с лакмусом не пептонизирует, подщелачивает. Использует соли аммония и нитраты, редуцирует нитраты в нитриты. Сероводород не выделяет. На жидкой среде Норриса окисляет ряд сахаров: мальтозу, глюкозу, галактозу, маннит, сахарозу, фруктозу, подкисляя среду. На мясопептонном агаре и бульоне не растет.

Генетические особенности - протроф, устойчивый к ряду антибиотиков (налидиксовая кислота, неомицин, стрептомицин). Штамм 263б идентифицирован по определителю Берге (1974) как штамм *Rhizobium leguminosarum*. Предлагаемый нами штамм клубеньковых бактерий гороха 263б получен в 1986 г. в отделе симбиотической азотфиксации Института физиологии растений и генетики АН Украины, испытан в Географической сети опытов и на протяжении всего времени он сохраняет морфологические, культурально-биохимические и симбиотические свойства.

Приме р 1. Исходным материалом для получения штамма служил активный штамм клубеньковых бактерий гороха 250а. Клубеньковые бактерии предварительно адаптировали к пониженным температурам путем посева на бобовый агар в течение 12 дней и проводили 3-4 пассажа. Из выросшей

культуры готовили водную суспензию - 1 млрд клеток/мл, рассевали на питательную среду бобовый агар в чашки Петри и помещали в холодильную камеру. Посев инкубировали 12-15 дней при температуре 8-10°C. Было проведено последовательно 10 пассажей с последующим инкубированием в тех же условиях, затем отбирали максимальные по величине колонии, которые размножали и в дальнейшем использовали для проверки их симбиотических свойств при инокуляции семян гороха. Температурный режим, время инкубации и количество пассажей подбирали экспериментально, как наиболее эффективные для получения клубеньковых бактерий, растущих при пониженных плюсовых температурах. Для дальнейшей работы был отобран клон предлагаемого штамма.

Приме р 2. Эффективность предлагаемого штамма № 263б проверяли в условиях вегетационных опытов в течение 1987-1990 гг. Вегетационные опыты проводили на речном мытом песке со смесью Гельригеля. Азот вносили в количестве 0,2 нормы. Использовали сосуды Вагнера объемом 11 кг. Семена гороха сорта Смарагд перед посевом стерилизовали 70% спиртом, промывали стерильной водой, потом инокулировали штаммом-стандартом и предлагаемым штаммом. Опыты проводили в 8-кратной повторности. Семена контрольных и опытных растений инокулировали суспензией клеток клубеньковых бактерий с титром 1 млрд/мл, приготовленных путем смыва 18-суточной культуры ризобий стерильной водопроводной водой по общепринятой методике. Стерильные семена выдерживали в суспензии бактерий в течение 2-х часов и высевали в сосуды при температуре 8-15°C. Абсолютным контролем служили неинокулированные растения. Опыты проводили в камере ВКШ в вегетационном домике. В опытах изучали симбиотическую азотфиксацию, которую определяли по редукции ацетилена в этилен (Hardy R.W.F. Holstein R.D. Jackson E.K., Burns R.C. The acetylene-ethylene assay for N_2 fixation: laboratory and field evaluation. - Plant Physiology, 1968, 43, № 8, p. 1185-1207) массу растений, время образования клубеньков при температуре 8-10°C и урожай семян гороха на сосуд.

Из данных табл. 1 и 2 видно, что предлагаемый штамм клубеньковых бактерий № 263б отличается от штамма-прототипа более ранним образованием клубеньков, повышенной азотфиксирующей активностью и эффективностью. При инокуляции предлагаемым штаммом клубеньки на корнях гороха образовались на 5-6 дней раньше, чем при обработке штаммом-прототипом. В связи с

более ранним образованием и функционированием клубеньков происходит увеличение периода активной азотфиксации. Более того, азотфиксирующая активность клубеньков гороха в варианте с инокуляцией предлагаемым штаммом в 1,5-2 раза выше, чем штаммом-прототипом. Как следует из данных таблиц инокуляция семян штаммом № 2636 увеличивает урожай зерна на 21% и зеленой массы на 8%.

П р и м е р 3. Эффективность предлагаемого штамма и штамма-прототипа в полевых условиях проверяли в течение 1988-1992 гг. Для этого предлагаемый № 2636 штамм выращивали на питательной среде (бобовый агар с сахарозой) при 8-10°C в пробирках в течение 12-14 суток, затем смывали стерильной водой с агара и готовили густую суспензию, которой засеивали матрацы с бобовым агаром (объем 1:5 л), инкубировали 3-5 суток при 26°C. После инкубации культуру смывали 50 мл стерильной воды и вводили инокулят шприцом в стерильный торф (200-300 г/га) и хорошо перемешивали. Приготовленный таким образом ризоторфин помещали в термостат при температуре 26°C на 3-5 суток. После инкубации проверяли титр клубеньковых бактерий, который составил 5×10^8 клеток на 1 г торфа и инокулировали семена гороха. Для этого гектарную норму семян увлажняли (1-2% от массы семян) и равномерно перемешивали с ризоторфином, приготовленным на предлагаемом штамме и производственном (штамм 250а - прототип), подсушивали в тени и высевали в почву. Абсолютным контролем был вариант без инокуляции. Полевые опыты проводили в хозяйствах, расположенных в зоне Лесостепи Украины (с. Зеленьки Миронковского района на типичном черноземе, малогумусном 3,5%, pH 6,7 и с. Глеваха Васильковского района Киевской области), где преобладают светло-серые оподзоленные, легко-суглинистые почвы с pH 6,0-6,7, содержание гумуса 1,6-1,7%, азот 13,6 мг/кг, P_2O_5 - 56,6 мг/кг, K_2O - 134 мг/кг. Полевые опыты проводили в 4-х кратной повторности, площадь делянки 5 кв.м. Растения гороха сорта Смарагд, Неосыпающийся, Богатырь чешский, Солара высевали в севообороте после сахарной свеклы, удобрений и пестициды не вносили.

В полевых условиях опытов 1988 г. сорт гороха Неосыпающийся выявлено увеличение нитрогеназной активности клубеньков

при инокуляции предлагаемым штаммом № 2636 в 1,5-2 раза по сравнению со штаммом-прототипом, что способствует повышению урожая зерна на 22% по сравнению с абсолютным контролем и на 17% по сравнению со штаммом-прототипом (табл. 3).

Как свидетельствуют данные табл. 4 в полевых условиях 1992 г. инокуляция семян гороха сорта Солара способствует увеличению азотфиксирующей активности, увеличивает урожай зерна на 9,5 ц/га. Особенно следует отметить положительное влияние инокуляции предлагаемым штаммом № 2636 на содержание белка в зерне. Как следует из табл. 4 содержание белка увеличилось на 5,2% по сравнению с инокуляцией штаммом-прототипом и на 5,3% против неинокулированного контроля.

Таким образом, в результате многолетних исследований установлено, что в условиях Лесостепи Украины, предлагаемый штамм № 2636 на многих сортах гороха способствует увеличению периода активной азотфиксации за счет более раннего образования клубеньков (на 5-6 суток раньше), чем штамм-прототип при температуре 8-12°C). Инокуляция предлагаемым штаммом № 2366 способствует увеличению азотфиксации в 2 раза по сравнению с штаммом-прототипом. Предлагаемый штамм клубеньковых бактерий гороха имеет повышенную эффективность по сравнению с прототипом, положительно влияет на увеличение урожая зерна гороха, содержание белка в зерне. Это дает возможность получения экологически чистой продукции за счет симбиотрофного питания гороха атмосферным азотом без внесения минерального азота в почву. Предлагаемый штамм № 2636 испытывали в течение трех лет в Географической сети опытов при ВНИИСХМ.

По данным Географической сети опытов (табл. 5) видно, что из 14 опытов в 11 случаях прибавка урожая, которую обеспечивал предлагаемый штамм, выше чем прибавка урожая от испытанного производственного штамма № 250а.

Штамм *Rhizobium leguminosarum* № 2636 рекомендован Межведомственной комиссией Географической сети опытов для использования в качестве производственного штамма.

Таблица 1 7

Эффективность штамма *Rh.leguminosarum* № 2636 в вегетационном опыте, сорт Смарагд, 1988 г.

Варианты опыта	Азотфиксирующая активность мкМ C_2H_4 г/час, фаза-бутионизации	Зеленая масса на сосуд, г			Средний урожай, г/сосуд	Прибавка урожая к контролю		Прибавка к штамму-стандарту	
		1	2	3		г	%	г	%
Контроль	Следы	19,1	18,4	19,8	$19,1 \pm 0,4$				
Штамм-прототип (<i>Rh.leguminosarum</i> 250a)	$2,3 \pm 0,3$	22,2	23,3	24,7	$23,4 \pm 0,7$				
(прототип)									
Штамм-прототип (<i>Rh.leguminosarum</i> 263a)	$5,1 \pm 0,6$	24,3	25,8	26,5	$25,5 \pm 0,5$	6,4	33	2,1	8
предлагаемый									

21012

8

Таблица 2 9

Эффективность штамма *Rh.leguminosarum* № 2636 в вегетационном опыте, сорт Смарагд, 1989 г.

Варианты опыта. Повторность	Время образования клубеньков при 8-12°C сутки после всходов	Азотфиксирующая активность мкМ C_2H_4 г/час, фаза-бутиониз.	Урожай на сосуд, г			Средний урожай, г/сосуд	Прибавка урожая к контролю		Прибавка к штамму-стандарту	
			1	2	3		г	%	г	%
Контроль	—	$0,25 \pm 0,03$	2,01	2,15	1,98	$2,34 \pm 0,05$				
Штамм-прототип (<i>Rh.leguminosarum</i> 250a)										
(прототип)	11	$2,92 \pm 0,50$	2,23	2,66	2,50	$2,46 \pm 0,12$				
Штамм-прототип (<i>Rh.leguminosarum</i> 263a)	6	$4,20 \pm 0,52$	2,81	3,2	2,95	$2,98 \pm 0,57$	0,94	46	0,52	21

21012

10

Таблица 3

Эффективность штамма *Rh.leguminosarum* № 263 б в полевом опыте, с. гороха Неосыпающийся, 1988 г.

Варианты опыта.	Азотфиксирующая активность мкМ C_2H_4 г/час, фаза-бутиониз.	Урожай по повторностям			Средний урожай, ц/га	Прибавка урожая к контролю		Прибавка к штамму-стандарту	
		1	2	3		ц/га	%	ц/га	%
Контроль	$0,05 \pm 0,007$	25,3	26,8	25,8	$25,9 \pm 0,4$				
Штамм-прототип (<i>Rh.leguminosarum</i> 250а)									
(прототип)	$6,86 \pm 0,01$	27,8	27,2	26,1	$27,0 \pm 0,4$				
Штамм-прототип (<i>Rh.leguminosarum</i> 263а)	$4,20 \pm 0,02$	31,5	32,3	31,8	$31,8 \pm 0,2$	5,9	22	4,8	17

P - 1,2
 НСР_{0,5} ц/га - 1,25

Таблица 4

Эффективность штамма *Rh.leguminosarum* № 263 б в полевом опыте, сорта гороха Солара, 1992г.

Варианты опыта.	Фиксирующая активность, мкМ C_2H_4 г/час	Урожай по повторностям				Средний урожай, ц/га	Прибавка урожая к контролю		Прибавка к штамму-стандарту		Содержание белка в зерне, %
		1	2	3	4		ц/га	%	ц/га	%	
Контроль	1,96±0,38	18,7	28,3	25,3	18,3	22,7					16,47±0,45
Штамм-прототип (Rh.leguminosarum 250a)	2,75±0,15	27,3	31,0	33,7	29,0	30,3					16,53±0,41
(прототип)											
Штамм-прототип (Rh.leguminosarum 263a)	3,18±0,45	34,5	40,2	32,3	33,7	35,2	12,5	5	4,9	16	21,77±0,68

НСР_{0,5} ц/га - 5,58

Таблица 5

Испытания штамма *Rh.leguminosarum* 2636 в географической сети опытов (1990-1991 г.)

Место опыта	Год	Урожай гороха в контроле, ц/га	Прибавка урожая гороха при использовании штаммов	
			250 а	263 б
1. Томский ГПИ	1990	24,8	+12,0	+29,0
2. Брянский СХИ	1990			
с. Труженик		27,4	+3,3	+2,7
с. Уладовский			+1,5	+2,5
с. Смарагд			+3,6	+4,9
3. Пензенский СХИ	1990	36,1	+5,2	+3,9
4. НПО "Подмосковье"	1991	14,1	-1,2	+5,7
5. Красноярский	1991	31,1	+3,5	+9,1
6. Луганское	1991			
НПО "Элита"		18,2	+0,5	+1,9
с. Труженик		14,2	-0,6	+1,9
с. Усач				
с. Детерминантный		15,6	+2,1	+1,7
7. НПО "Башкирское"	1991	9,7	+0,3	+1,1
8. Брянский СХИ	1991			
с. Смарагд		15,6		+14,0
с. Богатырь		21,5	+15,0	+24,0
с. Орловчанин		16,6	+18,0	+40,0

Упорядник

Техред М.Келемеш

Коректор М.Керецман

Замовлення 4413

Тираж

Підписне

Державне патентне відомство України,
254655, ГСП, Київ-53, Львівська пл., 8

Відкрите акціонерне товариство "Патент", м. Ужгород, вул.Гагаріна, 101



УКРАЇНА

(19) UA (11) 21012 (13) A

(51)6 C 05 F 11/08; C 12 R 1/41

ДЕРЖАВНЕ
ПАТЕНТНЕ
ВІДОМСТВООПИС ДО ПАТЕНТУ
НА ВІНАХІДбез проведення експертизи по суті
на підставі Постанови Верховної Ради України
№ 3769-XII від 23 XII 1993 рПублікується
в редакції заявника(54) ШТАМ БАКТЕРІЙ RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ БАКТЕРІАЛЬНОГО
ДОБРИВА ПІД ГОРОХ

1

(21) 93006126
(22) 13.07.93
(24) 07.10.97
(46) 27.02.98, Бюл. № 1
(47) 07.10.97
(72) Старченков Юхим Полікарпович, Манд-
ровська Наталія Михайлівна, Нічик Майя
Михайлівна, Кругова Олена Дмитрівна, Ос-

2

тапенко Дмитро Дмитрович, Кримська Ольга
Миколаївна, Цимбал Ганна Степанівна
(73) Інститут фізіології рослин і генетики
НАН України
(57) Штамм бактерій *Rhizobium*
leguminosarum № 263б (Национальная кол-
лекция клубеньковых бактерий ВНИИСХМ)
для получения бактериального удобрения под
горох.

Изобретение относится к сельскому хо-
зяйству, а именно к микробиологическим
средствам повышения урожая бобовых куль-
тур и представляет собой новый штамм
Rh.leguminosarum № 263 б, предназначен-
ный для промышленного изготовления бак-
териального препарата клубеньковых
бактерий - ризоторфина под горох.

Известен штамм *Rh.leguminosarum* 250 б
как активный симбиотический азотфиксатор,
однако он обладает низкой эффективностью
[Авт.св. СССР № 979307, кл. C 05 F 11/08, 1982].

Известен штамм *Rh.leguminosarum* 250
а [Авт.св. СССР № 489750, кл. C 05 F 11/08,
1975], выбранный авторами в качестве про-
тотипа, который увеличивает урожай зерна
гороха на 1 ц/га и содержание белка на
0,4%. Недостатком известного штамма яв-
ляется неспособность образовывать клу-
беньки при пониженных плюсовых
температурах, низкая активность и часто от-
сутствие эффекта от обработки семян гороха
этим штаммом.

Задачей изобретения является созда-
ние бактериального удобрения под горох на
основе нового штамма клубеньковых бакте-
рий *Rh.leguminosarum* № 263 б, который
имеет высокую азотфиксирующую актив-
ность и образует клубеньки при понижен-
ных плюсовых температурах, что
позволяет продлить период активной азот-
фиксации, увеличить урожай гороха за счет
экологически чистого симбиотического пита-
ния.

Штамм *Rh.leguminosarum* 263 б получен
в 1986 г. в отделе симбиотической азотфик-
сации ИФРГ АН Украины методом экспери-
ментальной селекции при использовании
низких положительных температур, как се-
лектирующего фактора. Полученный нами
штамм депонирован в национальной Кол-
лекции клубеньковых бактерий Всероссий-
ского научно-исследовательского института
сельскохозяйственной микробиологии под
номером 263 б в группе азотфиксирующих
микроорганизмов.

(19) UA (11) 21012 (13) A

Штамм клубеньковых бактерий № 263 б характеризуется следующими культурально-морфологическими признаками: культура бактерий - неспороносная, грамотрицательная, подвижная. Размер клеток 0,8-2,5 мкм. Клетки имеют палочковидную форму, перетрихи. На бобовом агаре Мазе (г/л - горох - 100,0, NaCl - 1,0, сахароза - 20,0, агар - 18, вода до 1 л, pH 6,8-7,0) на 3 сутки роста штрихом образует блестящие беловатые колонии диаметром 0,1-0,3 см. При температуре инкубации 27°C культура образует интенсивный рост и интенсивную внеклеточную бесцветную полисахаридную слизь.

На маннитно-дрожжевом агаре (г/л - дрожжевой экстракт - 1,0, маннит 10,0, K_2HPO_4 - 0,5, M 0,4-0,2, NaCl - 0,1, агар 15-18, вода дистиллированная 1 л, pH 7,0) культура образует однотипные круглые, слизистые, выпуклые, беловатые колонии размером до 0,4 см. Температура инкубации 27°C.

В отличие от штамма-прототипа культура клубеньковых бактерий № 263 б может расти на питательной среде при пониженных плюсовых температурах 8-10°C, образовывать клубеньки на 5 дней раньше, чем штамм-прототип, а также имеет более высокую азотфиксирующую активность и эффективность. Физиолого-биохимические признаки. Аэроб, температурный диапазон роста 8-28°C, оптимальная температура 18-27°C роста. Оптимум pH - 7,0-7,2. Желатину не разжижает. Молоко с лакмусом не пептонизирует, подщелачивает. Использует соли аммония и нитраты, редуцирует нитраты в нитриты. Сероводород не выделяет. На жидкой среде Норриса окисляет ряд сахаров: мальтозу, глюкозу, галактозу, маннит, сахарозу, фруктозу, подкисляя среду. На мясопептонном агаре и бульоне не растет.

Генетические особенности - протроф, устойчивый к ряду антибиотиков (налидиксовая кислота, неомицин, стрептомицин). Штамм 263б идентифицирован по определителю Берге (1974) как штамм *Rhizobium leguminosarum*. Предлагаемый нами штамм клубеньковых бактерий гороха 263б получен в 1986 г. в отделе симбиотической азотфиксации Института физиологии растений и генетики АН Украины, испытан в Географической сети опытов и на протяжении всего времени он сохраняет морфологические, культурально-биохимические и симбиотические свойства.

Пример 1. Исходным материалом для получения штамма служил активный штамм клубеньковых бактерий гороха 250а. Клубеньковые бактерии предварительно адаптировали к пониженным температурам путем высева на бобовый агар в течение 12 дней и проводили 3-4 пассажа. Из выросшей

культуры готовили водную суспензию - 1 млрд клеток/мл, рассеивали на питательную среду бобовый агар в чашки Петри и помещали в холодильную камеру. Посев инкубировали 12-15 дней при температуре 8-10°C. Было проведено последовательно 10 пассажей с последующим инкубированием в тех же условиях, затем отбирали максимальные по величине колонии, которые размножали и в дальнейшем использовали для проверки их симбиотических свойств при инокуляции семян гороха. Температурный режим, время инкубации и количество пассажей подбирали экспериментально, как наиболее эффективные для получения клубеньковых бактерий, растущих при пониженных плюсовых температурах. Для дальнейшей работы был отобран клон предлагаемого штамма.

Пример 2. Эффективность предлагаемого штамма № 263б проверяли в условиях вегетационных опытов в течение 1987-1990 гг. Вегетационные опыты проводили на речном мытом песке со смесью Гельригеля. Азот вносили в количестве 0,2 нормы. Использовали сосуды Вагнера объемом 11 кг. Семена гороха сорта Смарагд перед посевом стерилизовали 70% спиртом, промывали стерильной водой, потом инокулировали штаммом-стандартом и предлагаемым штаммом. Опыты проводили в 8-кратной повторности. Семена контрольных и опытных растений инокулировали суспензией клеток клубеньковых бактерий с титром 1 млрд/мл, приготовленных путем смыва 18-суточной культуры ризобий стерильной водопроводной водой по общепринятой методике. Стерильные семена выдерживали в суспензии бактерий в течение 2-х часов и высевали в сосуды при температуре 8-15°C. Абсолютным контролем служили неинокулированные растения. Опыты проводили в камере ВКШ в вегетационном домике. В опытах изучали симбиотическую азотфиксацию, которую определяли по редукции ацетилена в этилен (Hardy R.W.F., Holstein R.D., Jackson E.K., Burns R.C. The acetylene-ethylene assay for N_2 fixation: laboratory and field evaluation. - Plant Physiology, 1968, 43, № 8, p. 1185-1207) массу растений, время образования клубеньков при температуре 8-10°C и урожай семян гороха на сосуд.

Из данных табл. 1 и 2 видно, что предлагаемый штамм клубеньковых бактерий № 263б отличается от штамма-прототипа более ранним образованием клубеньков, повышенной азотфиксирующей активностью и эффективностью. При инокуляции предлагаемым штаммом клубеньки на корнях гороха образовались на 5-6 дней раньше, чем при обработке штаммом-прототипом. В связи с

более ранним образованием и функционированием клубеньков происходит увеличение периода активной азотфиксации. Более того, азотфиксирующая активность клубеньков гороха в варианте с инокуляцией предлагаемым штаммом в 1,5-2 раза выше, чем штаммом-прототипом. Как следует из данных таблиц инокуляция семян штаммом № 2636 увеличивает урожай зерна на 21% и зеленой массы на 8%.

П р и м е р 3. Эффективность предлагаемого штамма и штамма-прототипа в полевых условиях проверяли в течение 1988-1992 гг. Для этого предлагаемый № 2636 штамм выращивали на питательной среде (бобовый агар с сахарозой) при 8-10°C в пробирках в течение 12-14 суток, затем смывали стерильной водой с агара и готовили густую суспензию, которой засеивали матрасы с бобовым агаром (объем 1:5 л), инкубировали 3-5 суток при 26°C. После инкубации культуру смывали 50 мл стерильной воды и вводили инокулят шприцом в стерильный торф (200-300 г/га) и хорошо перемешивали. Приготовленный таким образом ризоторфин помещали в термостат при температуре 26°C на 3-5 суток. После инкубации проверяли титр клубеньковых бактерий, который составил 5×10^8 клеток на 1 г торфа и инокулировали семена гороха. Для этого гектарную норму семян увлажняли (1-2% от массы семян) и равномерно перемешивали с ризоторфином, приготовленным на предлагаемом штамме и производственном (штамм 250а - прототип), подсушивали в тени и высевали в почву. Абсолютным контролем был вариант без инокуляции. Полевые опыты проводили в хозяйствах, расположенных в зоне Лесостепи Украины (с. Зеленьки Мироновского района на типичном черноземе, малогумусном 3,5%, pH 6,7 и с. Глеваха Васильковского района Киевской области), где преобладают светло-серые оподзоленные, легко-суглинистые почвы с pH 6,0-6,7, содержание гумуса 1,6-1,7%, азот 13,6 мг/кг, P_2O_5 - 56,6 мг/кг, K_2O - 134 мг/кг. Полевые опыты проводили в 4-х кратной повторности, площадь делянки 5 кв.м. Растения гороха сорта Смарагд, Неосыпающийся, богатырь чешский, Солара высевали в севообороте после сахарной свеклы, удобрений и пестициды не вносили.

В полевых условиях опытов 1988 г. сорт гороха Неосыпающийся выявлено увеличение нитрогеназной активности клубеньков

при инокуляции предлагаемым штаммом № 2636 в 1,5-2 раза по сравнению со штаммом-прототипом, что способствует повышению урожая зерна на 22% по сравнению с абсолютным контролем и на 17% по сравнению со штаммом-прототипом (табл. 3).

Как свидетельствуют данные табл. 4 в полевых условиях 1992 г. инокуляция семян гороха сорта Солара способствует увеличению азотфиксирующей активности, увеличивает урожай зерна на 9,5 ц/га. Особенно следует отметить положительное влияние инокуляции предлагаемым штаммом № 2636 на содержание белка в зерне. Как следует из табл. 4 содержание белка увеличилось на 5,2% по сравнению с инокуляцией штаммом-прототипом и на 5,3% против неинокулированного контроля.

Таким образом, в результате многолетних исследований установлено, что в условиях Лесостепи Украины, предлагаемый штамм № 2636 на многих сортах гороха способствует увеличению периода активной азотфиксации за счет более раннего образования клубеньков (на 5-6 суток раньше), чем штамм-прототип при температуре 8-12°C). Инокуляция предлагаемым штаммом № 2636 способствует увеличению азотфиксации в 2 раза по сравнению с штаммом-прототипом. Предлагаемый штамм клубеньковых бактерий гороха имеет повышенную эффективность по сравнению с прототипом, положительно влияет на увеличение урожая зерна гороха, содержание белка в зерне. Это дает возможность получения экологически чистой продукции за счет симбиотрофного питания гороха атмосферным азотом без внесения минерального азота в почву. Предлагаемый штамм № 2636 испытывали в течение трех лет в Географической сети опытов при ВНИИСХМ.

По данным Географической сети опытов (табл. 5) видно, что из 14 опытов в 11 случаях прибавка урожая, которую обеспечивал предлагаемый штамм, выше чем прибавка урожая от испытанного производственного штамма № 250а.

Штамм *Rhizobium leguminosarum* № 2636 рекомендован Межведомственной комиссией Географической сети опытов для использования в качестве производственного штамма.

Таблица 1 7

Эффективность штамма *Rh.leguminosarum* № 2636 в вегетационном опыте, сорт Смарагд, 1988 г.

Варианты опыта	Азотфиксирующая активность мкМ C_2H_4 г/час, фаза-бутионизации	Зеленая масса на сосуд, г			Средний урожай, г/сосуд	Прибавка урожая к контролю		Прибавка к штамму-стандарту	
		1	2	3		г	%	г	%
Контроль	Следы	19,1	18,4	19,8	19,1±0,4				
Штамм-прототип (<i>Rh.leguminosarum</i> 250a)	2,3±0,3	22,2	23,3	24,7	23,4±0,7				
(прототип)									
Штамм-прототип (<i>Rh.leguminosarum</i> 263a)	5,1±0,6	24,3	25,8	26,5	25,5±0,5	6,4	33	2,1	8
предлагаемый									

21012

8

Таблица 2 9

Эффективность штамма *Rh.leguminosarum* № 2636 в вегетационном опыте, сорт Смарагд, 1989 г.

Варианты опыта. Повторность	Время образования клубеньков при 8-12°C сутки после всходов	Азотфиксирующая активность мкМ C_2H_4 г/час, фаза-бутиониз.	Урожай на сосуд, г			Средний урожай, г/сосуд	Прибавка урожая к контролю		Прибавка к штамму-стандарту	
			1	2	3		г	%	г	%
Контроль	—	0,25±0,03	2,01	2,15	1,98	2,34±0,05				
Штамм-прототип (<i>Rh.leguminosarum</i> 250a)										
(прототип)	11	2,92±0,50	2,23	2,66	2,50	2,46±0,12				
Штамм-прототип (<i>Rh.leguminosarum</i> 263a)	6	4,20±0,52	2,81	3,2	2,95	2,98±0,57	0,94	46	0,52	21

21012

10

Таблица 3

Эффективность штамма *Rh.leguminosarum* № 263 б в полевом опыте, с. гороха Неосыпающийся, 1988 г.

Варианты опыта.	Азотфиксирующая активность мкМ C_2H_4 г/час. фаза-бутониз.	Урожай по повторностям			Средний урожай, ц/га	Прибавка урожая к контролю		Прибавка к штамму-стандарту	
		1	2	3		ц/га	%	ц/га	%
Контроль	$0,05 \pm 0,007$	25,3	26,8	25,8	$25,9 \pm 0,4$				
Штамм-прототип (<i>Rh.leguminosarum</i> 250a)	$6,86 \pm 0,01$	27,8	27,2	26,1	$27,0 \pm 0,4$				
(прототип) Штамм-прототип (<i>Rh.leguminosarum</i> 263a)	$4,20 \pm 0,02$	31,5	32,3	31,8	$31,8 \pm 0,2$	5,9	22	4,8	17

P - 1,2
HCP_{0,5} ц/га - 1,25

Таблица 4 13

Эффективность штамма *Rh.leguminosarum* № 263 б в полевом опыте. сорта гороха Солара, 1992г.

Варианты опыта.	Фиксирующая активность, мкМ C_2H_4 г/час	Урожай по повторностям				Средний урожай, ц/га	Прибавка урожая к контролю		Прибавка к штамму-стандарту		Содержание белка в зерне, %
		1	2	3	4		ц/га	%	ц/га	%	
Контроль	1,96±0,38	18,7	28,3	25,3	18,3	22,7					16,47±0,45
Штамм-прототип (<i>Rh.leguminosarum</i> 250а)	2,75±0,15	27,3	31,0	33,7	29,0	30,3					16,53±0,41
(прототип) Штамм-прототип (<i>Rh.leguminosarum</i> 263а)	3,18±0,45	34,5	40,2	32,3	33,7	35,2	12,5	5	4,9	16	21,77±0,68

НСР_{0,5} ц/га - 5,58

21012

14

Таблица 5

Испытания штамма *Rh.leguminosarum* 2636 в географической сети опытов (1990-1991 г.)

Место опыта	Год	Урожай гороха в контроле, ц/га	Прибавка урожая гороха при использовании штаммов	
			250 а	263 б
1. Томский ГПИ	1990	24,8	+12,0	+29,0
2. Брянский СХИ	1990			
с. Труженик		27,4	+3,3	+2,7
с. Уладовский			+1,5	+2,5
с. Смарагд			+3,6	+4,9
3. Пензенский СХИ	1990	36,1	+5,2	+3,9
4. НПО "Подмосковье"	1991	14,1	-1,2	+5,7
5. Красноярский	1991	31,1	+3,5	+9,1
6. Луганское	1991			
НПО "Элита"		18,2	+0,5	+1,9
с. Труженик		14,2	-0,6	+1,9
с. Усач				
с. Детерминантный		15,6	+2,1	+1,7
7. НПО "Башкирское"	1991	9,7	+0,3	+1,1
8. Брянский СХИ	1991			
с. Смарагд		15,6		+14,0
с. Богатырь		21,5	+15,0	+24,0
с. Орловчанин		16,6	+18,0	+40,0

Упорядник

Техред М.Келемеш

Коректор М.Керецман

Замовлення 4413

Тираж

Підписне

Державне патентне відомство України,
254655, ГСП, Київ-53, Львівська пл., 8

Відкрите акціонерне товариство "Патент", м. Ужгород, вул.Гагаріна, 101



УКРАЇНА

(19) UA (11) 21012 (13) A(51) C 05 F 11/08; C 12 R 1/41ДЕРЖАВНЕ
ПАТЕНТНЕ
ВІДОМСТВООПИС ДО ПАТЕНТУ
НА ВІНАХІДбез проведення експертизи по суті
на підставі Постанови Верховної Ради України
№ 3769-XII від 23 XII 1993 рПублікується
в редакції заявника(54) ШТАМ БАКТЕРІЙ RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ БАКТЕРІАЛЬНОГО
ДОБРИВА ПІД ГОРОХ

1

(21) 93006126
(22) 13.07.93
(24) 07.10.97
(46) 27.02.98. Бюл. № 1
(47) 07.10.97
(72) Старченков Юхим Полікарпович, Манд-
ровська Наталія Михайлівна, Нічик Майя
Михайлівна, Кругова Олена Дмитрівна, Ос-

2

тапенко Дмитро Дмитрович, Кримська Ольга
Миколаївна, Цимбал Ганна Степанівна
(73) Інститут фізіології рослин і генетики
НАН України
(57) Штамм бактерій *Rhizobium*
leguminosarum № 2636 (Национальная кол-
лекция клубеньковых бактерий ВНИИСХМ)
для получения бактериального удобрения под
горох.

Изобретение относится к сельскому хо-
зяйству, а именно к микробиологическим
средствам повышения урожая бобовых куль-
тур и представляет собой новый штамм
Rh.leguminosarum № 263 б, предназначен-
ный для промышленного изготовления бак-
териального препарата клубеньковых
бактерий - ризоторфина под горох.

Известен штамм *Rh.leguminosarum* 250 б
как активный симбиотический азотфиксатор,
однако он обладает низкой эффективностью
[Авт.св. СССР № 979307, кл. C 05 F 11/08, 1982].

Известен штамм *Rh.leguminosarum* 250
а [Авт.св. СССР № 489750, кл. C 05 F 11/08,
1975], выбранный авторами в качестве про-
тотипа, который увеличивает урожай зерна
гороха на 1 ц/га и содержание белка на
0,4%. Недостатком известного штамма яв-
ляется неспособность образовывать клу-
беньки при пониженных плюсовых
температурах, низкая активность и часто от-
сутствие эффекта от обработки семян гороха
этим штаммом.

Задачей изобретения является созда-
ние бактериального удобрения под горох на
основе нового штамма клубеньковых бакте-
рий *Rh.leguminosarum* № 263 б, который
имеет высокую азотфиксирующую актив-
ность и образует клубеньки при понижен-
ных плюсовых температурах, что
позволяет продлить период активной азот-
фиксации, увеличить урожай гороха за счет
экологически чистого симбиотрофного пита-
ния.

Штамм *Rh.leguminosarum* 263 б получен
в 1986 г. в отделе симбиотической азотфик-
сации ИФРГ АН Украины методом экспери-
ментальной селекции при использовании
низких положительных температур, как се-
лектирующего фактора. Полученный нами
штамм депонирован в национальной Кол-
лекции клубеньковых бактерий Всеросий-
ского научно-исследовательского института
сельскохозяйственной микробиологии под
номером 263 б в группе азотфиксирующих
микроорганизмов.

(19) UA (11) 21012 (13) A

Штамм клубеньковых бактерий № 263 б характеризуется следующими культурально-морфологическими признаками: культура бактерий - неспороносная, граммотрицательная, подвижная. Размер клеток 0,8-2,5 мкм. Клетки имеют палочковидную форму, перетрихи. На бобовом агаре Мазе (г/л - горох - 100,0, NaCl - 1,0, сахароза - 20,0, агар - 18, вода до 1 л, pH 6,8-7,0) на 3 сутки роста штрихом образует блестящие беловатые колонии диаметром 0,1-0,3 см. При температуре инкубации 27°C культура образует интенсивный рост и интенсивную внеклеточную бесцветную полисахаридную слизь.

На маннитно-дрожжевом агаре (г/л - дрожжевой экстракт - 1,0, маннит 10,0 K_2HPO_4 - 0,5, M 04-0,2, NaCl - 0,1, агар 15-18, вода дистиллированная 1 л, pH 7,0) культура образует однотипные круглые, слизистые, выпуклые, беловатые колонии размером до 0,4 см. Температура инкубации 27°C.

В отличие от штамма-прототипа культура клубеньковых бактерий № 263 б может расти на питательной среде при пониженных плюсовых температурах 8-10°C, образовывать клубеньки на 5. дней раньше, чем штамм-прототип, а также имеет более высокую азотфиксирующую активность и эффективность. Физиолого-биохимические признаки. Аэроб, температурный диапазон роста 8-28°C, оптимальная температура 18-27°C роста. Оптимум pH - 7,0-7,2. Желатину не разжижает. Молоко с лакмусом не пептонизирует, подщелачивает. Использует соли аммония и нитраты, редуцирует нитраты в нитриты. Сероводород не выделяет. На жидкой среде Норриса окисляет ряд сахаров: мальтозу, глюкозу, галактозу, маннит, сахарозу, фруктозу, подкисляя среду. На мясопептонном агаре и бульоне не растет.

Генетические особенности - протроф, устойчивый к ряду антибиотиков (налидиксовая кислота, неомицин, стрептомицин). Штамм 263б идентифицирован по определителю Берге (1974) как штамм *Rhizobium leguminosarum*. Предлагаемый нами штамм клубеньковых бактерий гороха 263б получен в 1986 г. в отделе симбиотической азотфиксации Института физиологии растений и генетики АН Украины, испытан в Географической сети опытов и на протяжении всего времени он сохраняет морфологические, культурально-биохимические и симбиотические свойства.

Пример 1. Исходным материалом для получения штамма служил активный штамм клубеньковых бактерий гороха 250а. Клубеньковые бактерии предварительно адаптировали к пониженным температурам путем высева на бобовый агар в течение 12 дней и проводили 3-4 пассажа. Из выросшей

культуры готовили водную суспензию - 1 млрд клеток/мл, рассеивали на питательную среду бобовый агар в чашки Петри и помещали в холодильную камеру. Посев инкубировали 12-15 дней при температуре 8-10°C. Было проведено последовательно 10 пассажей с последующим инкубированием в тех же условиях, затем отбирали максимальные по величине колонии, которые размножали и в дальнейшем использовали для проверки их симбиотических свойств при инокуляции семян гороха. Температурный режим, время инкубации и количество пассажей подбирали экспериментально, как наиболее эффективные для получения клубеньковых бактерий, растущих при пониженных плюсовых температурах. Для дальнейшей работы был отобран клон предлагаемого штамма.

Пример 2. Эффективность предлагаемого штамма № 263б проверяли в условиях вегетационных опытов в течение 1987-1990 гг. Вегетационные опыты проводили на речном мытом песке со смесью Гельригеля. Азот вносили в количестве 0,2 нормы. Использовали сосуды Вагнера объемом 11 кг. Семена гороха сорта Смарагд перед посевом стерилизовали 70% спиртом, промывали стерильной водой, потом инокулировали штаммом-стандартом и предлагаемым штаммом. Опыты проводили в 8-кратной повторности. Семена контрольных и опытных растений инокулировали суспензией клеток клубеньковых бактерий с титром 1 млрд/мл, приготовленных путем смыва 18-суточной культуры ризобий стерильной водопроводной водой по общепринятой методике. Стерильные семена выдерживали в суспензии бактерий в течение 2-х часов и высевали в сосуды при температуре 8-15°C. Абсолютным контролем служили неинокулированные растения. Опыты проводили в камере ВКШ в вегетационном домике. В опытах изучали симбиотическую азотфиксацию, которую определяли по редукции ацетилена в этилен (Hardy R.W.F. Holstein R.D. Jackson E.K., Burns R.C. The acetylene-ethylene assay for N_2 fixation: laboratory and field evaluation. - Plant Physiology. 1968, 43, № 8, p. 1185-1207) массу растений, время образования клубеньков при температуре 8-10°C и урожай семян гороха на сосуд.

Из данных табл. 1 и 2 видно, что предлагаемый штамм клубеньковых бактерий № 263б отличается от штамма-прототипа более ранним образованием клубеньков, повышенной азотфиксирующей активностью и эффективностью. При инокуляции предлагаемым штаммом клубеньки на корнях гороха образовались на 5-6 дней раньше, чем при обработке штаммом-прототипом. В связи с

более ранним образованием и функционированием клубеньков происходит увеличение периода активной азотфиксации. Более того, азотфиксирующая активность клубеньков гороха в варианте с инокуляцией предлагаемым штаммом в 1,5-2 раза выше, чем штаммом-прототипом. Как следует из данных таблиц инокуляция семян штаммом № 2636 увеличивает урожай зерна на 21% и зеленой массы на 8%.

П р и м е р 3. Эффективность предлагаемого штамма и штамма-прототипа в полевых условиях проверяли в течение 1988-1992 гг. Для этого предлагаемый № 2636 штамм выращивали на питательной среде (бобовый агар с сахарозой) при 8-10°C в пробирках в течение 12-14 суток, затем смывали стерильной водой с агара и готовили густую суспензию, которой засеивали матрацы с бобовым агаром (объем 1:5 л), инкубировали 3-5 суток при 26°C. После инкубации культуру смывали 50 мл стерильной воды и вводили инокулят шприцом в стерильный торф (200-300 г/га) и хорошо перемешивали. Приготовленный таким образом ризоторфин помещали в термостат при температуре 26°C на 3-5 суток. После инкубации проверяли титр клубеньковых бактерий, который составил 5×10^8 клеток на 1 г торфа и инокулировали семена гороха. Для этого гектарную норму семян увлажняли (1-2% от массы семян) и равномерно перемешивали с ризоторфином, приготовленным на предлагаемом штамме и производственном (штамм 250а - прототип), подсушивали в тени и высевали в почву. Абсолютным контролем был вариант без инокуляции. Полевые опыты проводили в хозяйствах, расположенных в зоне Лесостепи Украины (с. Зеленьки Мироновского района на типичном черноземе, малогумусном 3,5%, pH 6,7 и с. Глеваха Васильковского района Киевской области), где преобладают светло-серые оподзоленные, легко-суглинистые почвы с pH 6,0-6,7, содержание гумуса 1,6-1,7%, азот 13,6 мг/кг, P_2O_5 - 56,6 мг/кг, K_2O - 134 мг/кг. Полевые опыты проводили в 4-х кратной повторности, площадь делянки 5 кв.м. Растения гороха сорта Смарагд, Неосыпающийся, богатырь чешский, Солара высевали в севообороте после сахарной свеклы, удобрений и пестициды не вносили.

В полевых условиях опытов 1988 г. сорт гороха Неосыпающийся выявлено увеличение нитрогеназной активности клубеньков

при инокуляции предлагаемым штаммом № 2636 в 1,5-2 раза по сравнению со штаммом-прототипом, что способствует повышению урожая зерна на 22% по сравнению с абсолютным контролем и на 17% по сравнению со штаммом-прототипом (табл. 3).

Как свидетельствуют данные табл. 4 в полевых условиях 1992 г. инокуляция семян гороха сорта Солара способствует увеличению азотфиксирующей активности, увеличивает урожай зерна на 9,5 ц/га. Особенно следует отметить положительное влияние инокуляции предлагаемым штаммом № 2636 на содержание белка в зерне. Как следует из табл. 4 содержание белка увеличилось на 5,2% по сравнению с инокуляцией штаммом-прототипом и на 5,3% против неинокулированного контроля.

Таким образом, в результате многолетних исследований установлено, что в условиях Лесостепи Украины, предлагаемый штамм № 2636 на многих сортах гороха способствует увеличению периода активной азотфиксации за счет более раннего образования клубеньков (на 5-6 суток раньше), чем штамм-прототип при температуре 8-12°C). Инокуляция предлагаемым штаммом № 2636 способствует увеличению азотфиксации в 2 раза по сравнению с штаммом-прототипом. Предлагаемый штамм клубеньковых бактерий гороха имеет повышенную эффективность по сравнению с прототипом, положительно влияет на увеличение урожая зерна гороха, содержание белка в зерне. Это дает возможность получения экологически чистой продукции за счет симбиотического питания гороха атмосферным азотом без внесения минерального азота в почву. Предлагаемый штамм № 2636 испытывали в течение трех лет в Географической сети опытов при ВНИИСХМ.

По данным Географической сети опытов (табл. 5) видно, что из 14 опытов в 11 случаях прибавка урожая, которую обеспечивал предлагаемый штамм, выше чем прибавка урожая от испытанного производственного штамма № 250а.

Штамм *Rhizobium leguminosarum* № 2636 рекомендован Межведомственной комиссией Географической сети опытов для использования в качестве производственного штамма.

Таблица 1 7

Эффективность штамма *Rh.leguminosarum* № 2636 в вегетационном опыте, сорт Смарагд, 1988 г.

Варианты опыта	Азотфиксирующая активность мкМ C_2H_4 г/час, фаза-бутонизации	Зеленая масса на сосуд, г			Средний урожай, г/сосуд	Прибавка урожая к контролю		Прибавка к штамму-стандарту	
		1	2	3		г	%	г	%
Контроль	Следы	19,1	18,4	19,8	$19,1 \pm 0,4$				
Штамм-прототип (<i>Rh.leguminosarum</i> 250a)	$2,3 \pm 0,3$	22,2	23,3	24,7	$23,4 \pm 0,7$				
(прототип)									
Штамм-прототип (<i>Rh.leguminosarum</i> 263a)	$5,1 \pm 0,6$	24,3	25,8	26,5	$25,5 \pm 0,5$	6,4	33	2,1	8
предлагаемый									

21012

8

Таблица 2 9

Эффективность штамма *Rh.leguminosarum* № 2636 в вегетационном опыте, сорт Смарагд, 1989 г.

Варианты опыта. Повторность	Время образования клубеньков при 8-12°C сутки после всходов	Азотфиксирующая активность мкМ C_2H_4 г/час, фаза-бутониз.	Урожай на сосуд, г			Средний урожай, г/сосуд	Прибавка урожая к контролю		Прибавка к штамму-стандарту	
			1	2	3		г	%	г	%
Контроль	—	$0,25 \pm 0,03$	2,01	2,15	1,98	$2,34 \pm 0,05$				
Штамм-прототип (<i>Rh.leguminosarum</i> 250a)										
(прототип)	11	$2,92 \pm 0,50$	2,23	2,66	2,50	$2,46 \pm 0,12$				
Штамм-прототип (<i>Rh.leguminosarum</i> 263a)	6	$4,20 \pm 0,52$	2,81	3,2	2,95	$2,98 \pm 0,57$	0,94	46	0,52	21

21012

10

Таблица 3

Эффективность штамма *Rh.leguminosarum* № 263 б в полевом опыте, с. гороха Неосыпающийся, 1988 г.

Варианты опыта.	Азотфиксирующая активность мкМ C_2H_4 г/час. фаза-бутиониз.	Урожай по повторностям			Средний урожай, ц/га	Прибавка урожая к контролю		Прибавка к штамму-стандарту	
		1	2	3		ц/га	%	ц/га	%
Контроль	$0,05 \pm 0,007$	25,3	26,8	25,8	$25,9 \pm 0,4$				
Штамм-прототип (<i>Rh.leguminosarum</i> 250а)									
(прототип)	$6,86 \pm 0,01$	27,8	27,2	26,1	$27,0 \pm 0,4$				
Штамм-прототип (<i>Rh.leguminosarum</i> 263а)	$4,20 \pm 0,02$	31,5	32,3	31,8	$31,8 \pm 0,2$	5,9	22	4,8	17

Р - 1,2

НСР_{0,5} ц/га - 1,25

Таблица 4

Эффективность штамма *Rh.leguminosarum* № 263 б в полевом опыте, сорта гороха Солара, 1992г.

Варианты опыта.	Фиксирующая активность, мкМ C_2H_4 г/час	Урожай по повторностям				Средний урожай, ц/га	Прибавка урожая к контролю		Прибавка к штамму-стандарту		Содержание белка в зерне, %
		1	2	3	4		ц/га	%	ц/га	%	
Контроль	$1,96 \pm 0,38$	18,7	28,3	25,3	18,3	22,7					$16,47 \pm 0,45$
Штамм-прототип (<i>Rh.leguminosarum</i> 250a)											
(прототип)	$2,75 \pm 0,15$	27,3	31,0	33,7	29,0	30,3					$16,53 \pm 0,41$
Штамм-прототип (<i>Rh.leguminosarum</i> 263a)	$3,18 \pm 0,45$	34,5	40,2	32,3	33,7	35,2	12,5	5	4,9	16	$21,77 \pm 0,68$

НСР_{0,5} ц/га - 5,58

Таблица 5

Испытания штамма *Rh.leguminosarum* 2636 в географической сети опытов (1990-1991 г.)

Место опыта	Год	Урожай гороха в контроле, ц/га	Прибавка урожая гороха при использовании штаммов	
			250 а	263 б
1. Томский ГПИ	1990	24,8	+12,0	+29,0
2. Брянский СХИ	1990			
с. Труженик		27,4	+3,3	+2,7
с. Уладовский			+1,5	+2,5
с. Смарагд			+3,6	+4,9
3. Пензенский СХИ	1990	36,1	+5,2	+3,9
4. НПО "Подмосковье"	1991	14,1	-1,2	+5,7
5. Красноярский	1991	31,1	+3,5	+9,1
6. Луганское	1991			
НПО "Элита"		18,2	+0,5	+1,9
с. Труженик		14,2	-0,6	+1,9
с. Усач				
с. Детерминантный		15,6	+2,1	+1,7
7. НПО "Башкирское"	1991	9,7	+0,3	+1,1
8. Брянский СХИ	1991			
с. Смарагд		15,6		+14,0
с. Богатырь		21,5	+15,0	+24,0
с. Орловчанин		16,6	+18,0	+40,0

Упорядник

Техред М.Келемеш

Коректор М.Керецман

Замовлення 4413

Тираж

Підписне

Державне патентне відомство України,
254655, ГСП, Київ-53, Львівська пл., 8

Відкрите акціонерне товариство "Патент", м. Ужгород, вул.Гагаріна, 101