



(51) МПК
A01N 63/38 (2020.01)
A01C 1/06 (2006.01)
C12N 1/14 (2006.01)
C12R 1/885 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A01N 63/38 (2022.08); A01C 1/06 (2022.08); C12N 1/14 (2022.08); C12R 2001/885 (2022.08)

(21)(22) Заявка: 2021138051, 20.12.2021

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
20.12.2021

Дата регистрации:
30.01.2023

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 20.12.2021

(45) Опубликовано: 30.01.2023 Бюл. № 4

Адрес для переписки:

656049, г. Барнаул, пр-кт Ленина, 61, ФГБОУ
 ВО "Алтайский государственный университет",
 ЦРТПТТУИС

(72) Автор(ы):

Скапцов Михаил Викторович (RU),
 Смирнов Сергей Владимирович (RU),
 Куцев Максим Геннадьевич (RU)

(73) Патентообладатель(и):

федеральное государственное бюджетное
 образовательное учреждение высшего
 образования "Алтайский государственный
 университет" (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете

о поиске: WO 2010009241 A2, 21.01.2010.
 US2021100252 A1, 08.04.2021. US 9884791 B2,
 06.02.2018. RU 2749170 C2, 07.06.2021. RU
 2658430 C1, 21.06.2018. RU 2170511 C2,
 20.07.2001.

(54) Биопрепарат на основе продуктов метаболизма триходермы с минеральной компонентой и способ его получения

(57) Реферат:

Группа изобретений относится к области производства и применения биологических средств защиты растений в сельском хозяйстве и раскрывает способ получения биопрепарата для стимуляции роста растений, устранения и профилактики хлороза, включающий этапы первоначального культивирования грибов Триходерма и хранения при плюс 4 градусах Цельсия на картофельно-декстрозном агаре или среде Чапека с последующим инокулированием культуры Триходерма на жидкую картофельно-декстрозную питательные среду или среду Чапека и культивированием в течение 3-7 суток при 30 градусах Цельсия, отличающийся тем, что на стадии культивирования в жидких питательных

средах добавляются железо, марганец, цинк и кобальт в хелатной форме, которые получили следующим способом: 12 г хлорида железа, 1 г хлорида кобальта, 2 г хлорида марганца, 2 г хлорида цинка и 20 г Трилона Б растворяют в 70 мл воды; постоянно перемешивая, вливают 30 г 70% мелассы, сахарозы или патоки, рН доводят до 7,0, добавляя по каплям 50% гидроксид калия, с последующим смешиванием с инертным наполнителем. Также группа изобретений относится к биопрепарату для стимуляции роста растений, устранения и профилактики хлороза. Технический результат заключается в стимуляции роста растений, устранении профилактики хлороза. 2 н.п. ф-лы, 2 табл., 4 пр.

RU 2 789 123 C1

RU 2 789 123 C1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
A01N 63/38 (2020.01)
A01C 1/06 (2006.01)
C12N 1/14 (2006.01)
C12R 1/885 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

A01N 63/38 (2022.08); A01C 1/06 (2022.08); C12N 1/14 (2022.08); C12R 2001/885 (2022.08)(21)(22) Application: **2021138051, 20.12.2021**(24) Effective date for property rights:
20.12.2021Registration date:
30.01.2023

Priority:

(22) Date of filing: **20.12.2021**(45) Date of publication: **30.01.2023** Bull. № 4

Mail address:

**656049, g. Barnaul, pr-kt Lenina, 61, FGBOU VO
"Altajskij gosudarstvennyj universitet",
TSRTPPTUIS**

(72) Inventor(s):

**Skaptsov Mikhail Viktorovich (RU),
Smirnov Sergej Vladimirovich (RU),
Kutsev Maksim Gennadevich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**federalnoe gosudarstvennoe byudzhetnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniya "Altajskij gosudarstvennyj
universitet" (RU)**(54) **BIOPREPARATION BASED ON TRICHODERM METABOLISM PRODUCTS WITH A MINERAL COMPONENT AND A METHOD FOR ITS PREPARATION**

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology.

SUBSTANCE: group of inventions relates to the field of production and application of biological plant protection products in agriculture and reveals a method for obtaining a biological product to stimulate plant growth, eliminate and prevent chlorosis, including the stages of initial cultivation of Trichoderma fungi and storage at plus 4 degrees Celsius on potato-dextrose agar or Capek medium, followed by inoculation of Trichoderma culture on liquid potato-dextrose nutrient medium or Capek medium and cultivation for 3-7 days at 30 degrees Celsius, characterized in the fact that at the cultivation stage, iron, manganese, zinc and cobalt are added in liquid nutrient media in chelated form,

which are obtained in the following way: 12 g of iron chloride, 1 g of cobalt chloride, 2 g of manganese chloride, 2 g of zinc chloride and 20 g of Trilon B are dissolved in 70 ml of water; constantly stirring, 30 g of 70% molasses, sucrose or syrup are poured, pH is adjusted to 7.0, adding 50% potassium hydroxide drop by drop, followed by mixing with an inert filler. Also, the group of inventions relates to a biopreparation for stimulating plant growth, eliminating and preventing chlorosis.

EFFECT: stimulating plant growth, eliminating and preventing chlorosis.

2 cl, 2 tbl, 4 ex

Изобретение относится к области сельского хозяйства, к биологическим средствам, регулирующим развитие и защитные функции растений.

Известно, что представители рода Триходерма (*Trichoderma*) оказывают биоцидное действие на патогенные грибы, бактерии - возбудители болезней растений, также оказывают инсектицидный и акарицидный эффект. Триходерма находит широкое применение в сельском хозяйстве. Благодаря способности не только подавлять рост и развитие других грибов, но и паразитировать на них, не нанося вреда растениям, триходерма используется в качестве биологического метода защиты растений от грибковых заболеваний, против почвенных нематод в теплицах и открытом грунте.

Кроме того, в последнее время выяснено, что выделения мицелия некоторых видов *Trichoderma* позволяют переводить микроэлементы (ионы Fe, Cu, Zn, Co и т.д.) из трудно растворимых и плохо усваиваемых растениями солей в биодоступные. Триходерма выделяет сидерофоры и способна расти в условиях с низким содержанием железа за счет использования остаточного иммобилизованного железа. Большинство грибов, включая *Trichoderma*, продуцируют различные формы сидерофоров, которые помогают грибам преодолевать неблагоприятные почвенные условия. Синтез сидерофоров может быть полезным для растений по двум причинам: производство сидерофоров грибами-антагонистами может подавлять рост патогенов растений, лишая их источника железа, сидерофоры могут помочь в растворении железа, делая его более доступным для растений.

Наиболее известны жидкие препараты на основе видов Триходерма с использованием биомассы, полученной при глубинном культивировании (Патент RU2658430 C1), или обработка конидеоспорами, полученными в результате твердофазного или поверхностного культивирования (Патент RU2186847 C2). Недостатком глубинного культивирования является короткий срок хранения полученных препаратов, тем самым сложность получения товарных форм. Недостатком твердофазного культивирования, при котором получают воздушные конидии и конидиоспоры, является отсутствие вторичных метаболитов, накапливающихся при глубинном культивировании. Вторичные метаболиты в культуральной жидкости содержат регуляторы роста, сидерофоры и антибиотики, которые также можно использовать в растениеводстве.

Известен препарат Триходермин (патент RU2035145 C1), представляющий собой сконцентрированную биомассу грибов *Trichoderma lignorum* с глицерином, поливинилпирролидоном или полиэтиленоксидом для увеличения срока годности, однако недостатком способа получения является необходимость применения методов концентрирования биомассы и использование дорогостоящих компонентов, для увеличения срока биологической активности. Кроме того, биологическая активность препарата сохраняется не более трех месяцев и требует особых температурных условий хранения.

Из известных технических решений наиболее близким по назначению и технической составляющей к заявляемому объекту является препарат по патенту RU2380906 C2. Данный препарат представляет из себя сконцентрированную биомассу гриба Триходерма или высушенную порошкообразную форму. Недостатком данного препарата являются стадии концентрирования биомассы, что требует дополнительного оборудования, применение солей тяжелых металлов, таких как ртуть и серебро, а также использование дорогостоящих компонентов в качестве наполнителя, а именно кристаллическую микроцеллюлозу, поливиниловый спирт, цеолит. Кроме того, для данного препарата заявлена только фунгицидная и бактерицидная активность.

Одним из направлений в биопрепаратах на сегодняшний день является

универсальность и комплексность воздействия. Введение в состав минеральных и органических компонентов в комплексе с биологическим агентом, расширяет сферу применения биопрепаратов. Наиболее доступны растениям хелатные формы микроэлементов. Сидерофоры Триходермы обладают большим сродством, например к трехвалентной форме железа, чем к двухвалентной. Одной из проблем получения хелатных соединений является низкая устойчивость получаемых комплексов к кислотности среды, а именно устойчивость хелатного комплекса наблюдается в узком диапазоне рН от 6 до 7,5. Из известных технических решения получения хелатов наиболее близким по назначению и технической сущности является способ из патента US4189462 А, где в качестве поддерживающего комплекс компонента используют сахара, а именно сахарозу, глюкозу, маннитол и сорбитол.

Биопрепарат из данного изобретения представляет высушенную биомассу: культуральную жидкость и мицелий грибов Триходерма с добавлением смеси растворимых солей железа, кобальта, марганца в нативной и хелатной форме, где в качестве стабилизирующего хелатный комплекс компонента используется меласса и глицерин. Препарат является универсальным и пригоден для широкого списка видов и культур растений.

Задачей изобретения, является создание биопрепарата с минеральной компонентой, влияющего на рост, развитие и устойчивость к бактериальным и грибным заболеваниям, а также, разработка способа получения высушенного препарата, представляющего собой культуральную жидкость и мицелий грибов Триходерма.

Сущность предлагаемого изобретения заключается в том, что биопрепарат получают путем глубинного культивирования видов Триходерма с внесением на финальных стадиях культивирования растворов солей железа, кобальта, марганца и цинка в нативной и хелатной форме, последующем добавлении инертного наполнителя и сушкой. Первоначальную культуру грибов Триходерма поддерживают на картофельно-декстрозном агаре при плюс 4 градусах Цельсия. Первоначальную культуру инокулируют в жидкую питательную среду и культивируют при плюс 30 градусах Цельсия в колбах при постоянном перемешивании или ферментерах при постоянном перемешивании и дополнительной аэрации от трех суток и более. В течение культивирования в культуральную жидкость добавляют раствор солей железа, кобальта, марганца, цинка по отдельности или в смеси, в нативной или хелатной форме. После прекращения роста мицелия в биомассу вносят инертный наполнитель, тальк или бентонит с постоянным перемешиванием до получения влажного порошка. Далее влажный порошок сушат при температуре не более плюс 40 градусов Цельсия до 70-95% влажности.

Тем самым полученный биопрепарат может иметь следующее соотношение компонентов, % к массе:

- Биомасса грибов - 20-50,
- Наполнитель - не более 80,
- Смесь солей железа, марганца, цинка и кобальта - не более 5%.

Способ его получения включает этапы первоначального культивирования грибов Триходерма и хранения при плюс 4 градусах Цельсия на картофельно-декстрозном агаре или среде Чапека с последующим инокулированием культуры Триходерма на жидкую картофельно-декстрозную питательные среду или среду Чапека и культивированием в течение 3-7 суток при 30 градусах Цельсия, отличающийся тем, что на стадии культивирования в жидких питательных средах добавляются соли железа, марганца, цинка и кобальта в хелатной форме полученных следующим способом: 12

гр. хлорида железа, 1 гр. хлорида кобальта, 2 гр. хлорида марганца, 2 гр. хлорида цинка и 20 гр. Трилона Б растворяют в 70 мл воды; постоянно перемешивая, вливают 30 гр. 70% мелассы, сахарозы или патоки, рН доводят до 7,0, добавляя по каплям 50% гидроксид калия.

5 Изобретение осуществляется следующими примерами:

Пример 1. Хранящийся на твердых питательных средах мицелий Три-ходермы инокулируют в колбы объемом 1 литр с 300 мл питательной среды следующего состава: 300 гр. картофельного отвара, 1 гр. дрожжевого экстракта, 20 гр. глюкозы, вода до 1 л. Культивирование осуществляют при перемешивании при 180 об/мин., при 30 градусах Цельсия в течение 7 суток. Полученную биомассу переносят в месильное устройство и добавляют инертный наполнитель тальк или бентонит до 70% от первоначального веса биомассы в культуральной жидкости. Перемешивают до формирования влажного порошка. Готовый препарат хранится при температуре плюс 4 -плюс 10 градусов Цельсия не менее 3 месяцев. При необходимости более длительного хранения

10

15 полученный влажный порошок высушивают при температуре плюс 40 градусов Цельсия.

Пример 2. В культуральную жидкость по примеру 1, на 3 суток добавляют 1 мл 13% раствора хлорида железа, 1 мл 5% раствора хлорида марганца, 1 мл 1% хлорида цинка, 1 мл 1% раствора хлорида кобальта.

Пример 3. В культуральную жидкость по примеру 1, на 3 суток добавляют 10 мл раствора хелатов железа, цинка, марганца и кобальта, полученных следующим способом: 12 гр. хлорида железа, 1 гр. хлорида кобальта, 2 гр. хлорида марганца, 2 гр. хлорида цинка и 20 гр. Трилона Б растворяют в 70 мл воды. Постоянно перемешивая влить 30 гр. 70% мелассы, рН довести до 7,0 добавляя по каплям 50% гидроксид калия.

20

Пример 4. В способе получения хелатов по примеру 3, вместо поддерживающей

25 комплекс мелассы добавляют 30 гр. глицерина.

Эффективность получаемого по предлагаемому способу биопрепарата исследовали, оценивая время проращивания, скорость роста тестовых культур растений и процент растений с признаками хлороза выращиваемых на обедненном грунте.

Семена гороха Первый Ранний, огурца Засолочный, капусты белокочанной Бабушкин секрет, перца Красный богатырь замачивали в 5% растворе биопрепарата

30

приготовленного по примеру 3, контрольные - в дистиллированной воде и проращивали при температуре +25°C от 4 до 10 суток. Всхожесть оценивают из процентного соотношения проросших семян к не проросшим. Скорость роста оценивают по 5 бальной шкале. Полученные результаты представлены в таблице 1.

35

Таблица 1					
Сорт	Время про- ращивания, сут.	Всхожесть (%)	Скорость роста, балл	Кол-во (%) про- росших семян (контр.)	Скорость рос- та, балл (контр.)
40 Горох Первый Ранний	5	97	5	89	4
45 Огурец Засо-	5	90	5	79	5

лочный					
Капуста	7	96	5	88	4
Бабуш- кин сек- рет					
Перец	7	96	5	88	4
Красный бога- тырь					

Растения высаживали в обедненный грунт (торфо-песчаная смесь, с добавлением
необходимого минимального количества азота, фосфора, калия). рН почвенной смеси
7,0, культивировали при температуре +25°C наблюдали рост и развитие в течении 50
суток. Оценивали проявление хлороза. К хлорозным растениям относились все растения
с проявлением его в верхушечной формации листьев (верхние листья), а также при
наличии хлороза у не менее 1/3 низовой и срединной формации листьев. Выборка каждой
культуры составляла 100 растений.

Полученные результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2		
Сорт	Процент растений с признаками хлороза	Процент растений с признаками хлороза, контрольная группа
Петуния семен- ная Limbo Blue	5	10
Петуния «Кас- кадиас Пасси- он», черенки	10	27
Перец болгар- ский «Феникс»	7	15
Огурец «Засо- лочный»	5	15

Таким образом, заявленный биопрепарат обладает комплексным воздействием:
позволяет регулировать рост и развитие, а также устойчивость растений к грибковым
и бактериальным заболеваниям, является простым и эффективным средством. Важно
отметить, что благодаря входящим в состав композиции метаболитам Триходермы и
микроэлементам при использовании достигается эффект многофункциональности,
происходит общее развитие растения, включая стимуляцию развития.

(57) Формула изобретения

1. Способ получения биопрепарата для стимуляции роста растений, устранения и
профилактики хлороза, включающий этапы первоначального культивирования грибов
Триходерма и хранения при плюс 4 градусах Цельсия на картофельно-декстрозном
агаре или среде Чапека с последующим инокулированием культуры Триходерма на
жидкую картофельно-декстрозную питательную среду или среду Чапека и

культивированием в течение 3-7 суток при 30 градусах Цельсия, отличающийся тем, что на стадии культивирования в жидких питательных средах добавляются железо, марганец, цинк и кобальт в хелатной форме, которые получили следующим способом: 12 г хлорида железа, 1 г хлорида кобальта, 2 г хлорида марганца, 2 г хлорида цинка и 20 г Трилона Б растворяют в 70 мл воды; постоянно перемешивая, вливают 30 г 70% мелассы, сахарозы или патоки, рН доводят до 7,0, добавляя по каплям 50% гидроксид калия, с последующим смешиванием с инертным наполнителем.

2. Биопрепарат для стимуляции роста растений, устранения и профилактики хлороза, полученный способом по п. 1, со следующим соотношением компонентов, в % к массе:

10	Биомасса грибов	20-50
	Наполнитель	от 45 до 75
	Смесь железа, марганца, цинка и кобальта	не более 5%

15

20

25

30

35

40

45