

ТЕХНОЛОГІЯ ПРОДУКТІВ БРОДІННЯ, БІОТЕХНОЛОГІЯ ТА ФАРМАЦІЯ

УДК 579.841.222

Р.І. Вільданова-Марцишин¹, О.В. Карпенко¹, М.В. Пристай¹, В.П. Новіков²

¹Відділення фізико-хімії горючих копалин
Інституту фізико-органічної хімії і вуглекімії ім. Л. М. Литвиненка
НАН України

²Національний університет “Львівська політехніка”,
кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології

ВПЛИВ БІОПАР НА ЕНЕРГІЮ ПРОРОСТАННЯ НАСІННЯ ЛЮЦЕРНИ І ВИКИ

© Вільданова-Марцишин Р.І., Карпенко О.В., Пристай М.В., Новіков В.П., 2008

Встановлено стимулюючий вплив біогенних поверхнево-активних речовин (біоПАР) мікроорганізмів родів *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhodococcus* на енергію проростання і схожість насіння люцерни (сортів Роксолана і Зайкевич) та вики (сорту Львів'янка).

A stimulating influence of biogenic surface-active substances (biosurfactants) of microorganisms of genus *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhodococcus* on germination energy and germination of seeds of alfalfa (kinds “Roksolana” and Zaikevych) and vicae (kind “Lvivyanka”) was determinate.

Постановка проблеми. Сучасні технології рослинництва вимагають створення біопрепаратів, які не тільки забезпечують ефективне азотне живлення сільськогосподарських рослин, але й підвищують схожість насіння. Розроблення таких препаратів дає змогу зменшити затрати у рослинництві та отримати високий урожай сільськогосподарських культур.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Бобові культури у симбіозі з бульбочковими бактеріями здатні засвоювати азот з повітря, забезпечуючи до 70 % своєї потреби у цьому елементі [1]. Але це відбувається тільки якщо на корінні розвивається велика кількість активних бульбочок. Азотфіксувальну активність корневих бульбочок можна значно збільшити застосуванням біопрепаратів на основі високоефективних, конкурентоспроможних селекційних штамів бульбочкових бактерій. Використання таких біопрепаратів для передпосівної інокуляції насіння різних сільськогосподарських рослин (у польових і виробничих дослідах) показало, що в 70–80 % випадків вони істотно збільшували урожай зеленої маси в першій і другий роки життя рослин [2].

Люцерна і вика є важливими кормовими культурами, які не тільки йдуть на корм худобі, але і збагачують ґрунти азотом [4]. Бобові рослини є прекрасними попередниками для наступних сільськогосподарських культур, збагачуючи вміст азоту в ґрунті. Наприклад, люцерна залишає в ґрунті близько третини накопиченого азоту. У зв'язку з цим бобові рослини називають зеленими добривами – сидеральними культурами [3]. Пошук нових екологічно безпечних препаратів для збільшення схожості насіння цих рослин є дуже актуальним.

Застосування біогенних поверхнево-активних речовин (біоПАР) для підвищення енергії проростання і схожості насіння важливих сільськогосподарських культур є новим і перспективним напрямком у рослинництві. БіоПАР можна використовувати для отримання нових і модифікації відомих препаратів для сільського господарства [5, 6].

Мета роботи – встановити вплив передпосівного оброблення насіння вики і люцерни розчинами різних біоПАР на енергію проростання насіння та підібрати оптимальні концентрації ПАР.

Експериментальна частина. Об'єктами дослідження було насіння вики та люцерни і біогенні поверхнево-активні речовини.

Для отримання біоПАР використовували культуральні рідини мікроорганізмів родів *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhodococcus*. Культивування мікроорганізмів здійснювали у колбах Ерленмейера (750 мл) з робочим об'ємом 150 мл на ротаційній качалці (220 об/хв) при температурі 300 °С упродовж 5 діб на середовищі [7, 8, 9]. Як джерело вуглецю використовували сахарозу і гексадекан (2 % мас.). Рамноліпіди виділені з супернатанту культуральної рідини штаму *Pseudomonas* sp. PS-17, пептидоліпіди – з супернатанту культуральної рідини *Bacillus* sp. F і трегалозоліпіди – з культуральної рідини штаму *Rhodococcus erythropolis* 140.

Супернатант культуральної рідини отримували центрифугуванням 20 хв при 8 тис. об./хв Біокомплекс PS отримували підкисленням супернатанту культуральної рідини штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 до рН 3,0. Отриманий осад відділяли центрифугуванням при 8000 об/хв впродовж 20 хв.

Екстракцію рамноліпідів (RL), трегалозоліпідів (TL), пептидоліпідів (PL) здійснювали сумішшю Фолча (хлороформ:ізопропанол – 2:1) із супернатанту культуральної рідини, що підкислювали до рН 3,0 0,1 н розчином соляної кислоти.

Об'єкт досліджень – насіння сільськогосподарських рослин, що культивуються у західному регіоні України: люцерна сортів Роксолана і Зайкевич, вика озима сорту Львів'янка. Насіння поверхнево стерилізували сумішшю етилового спирту і перексиду водню (1:1) впродовж 5 хв, після чого промивали стерильною дистильованою водою, висушували, потім розкладали у склянки по 100 шт у кожну і додавали по 2 % (щодо маси насіння) розчинів рамноліпідів, трегалозоліпідів, пептидоліпідів. Зазначені біоПАР застосовували у таких концентраціях (%): 1) RL – 0,005; 0,01; 0,02; 0,05; 0,1; 0,25; 0,5; 2) PL – 0,005; 0,01; 0,02; 3) TL – 0,005; 0,01; 0,02; 0,05. Оброблене насіння перемішували, витримували 1 год, після чого розкладали у підготовлені лотки із зволоженою ватною підкладкою і гофрованим фільтрувальним папером. Контрольне насіння обробляли аналогічно дистильованою водою. Насіння пророщували у темному місці за кімнатної температури. Кожної доби підраховували кількість насіння, яке проросло.

Результати досліджень. Вивчено вплив передпосівного оброблення насіння люцерни сорту Роксолана розчинами різних біоПАР на енергію його проростання й схожість. У досліді використовували водні розчини таких ПАР: рамноліпідів (RL), пептидоліпідів (PL), трегалозоліпідів (TL). Встановлено, що насіння, оброблене розчинами біоПАР, проростало активніше і мало міцніші корінці, ніж в контролі. Оптимальна концентрація рамноліпідів для оброблення насіння становить 0,005 %. Енергія проростання збільшувалась на 14 % на першу добу, на 12 % на другу добу та на 10 % на третю добу. Оброблення насіння розчинами TL та PL неістотно впливало на енергію проростання насіння люцерни сорту Роксолана (на 2–6 %). Дані експерименту подано на рис. 1.

Вивчався вплив супернатанту культуральної рідини штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 (у різних концентраціях) на енергію проростання люцерни сорту Роксолана (рис. 2). Встановлена його специфічна дія: передпосівне оброблення насіння стерильним супернатантом культуральної рідини інгібує розвиток зародків і знижує енергію проростання. При розведеннях супернатанту в 3–4 рази проявляється стимулюючий ефект – енергія проростання зростає на 5–7 % щодо контролю.

Вивчено вплив біокомплексу PS на енергію проростання насіння люцерни сорту Зайкевич. Використовували розчини біокомплексу PS таких концентрацій: 0,0005; 0,001 і 0,005 % (табл.1).

Найбільший ефект одержано при обробленні насіння біокомплексом PS за концентрації 0,005 %: енергія проростання збільшувалась на 14,4 % на 1-шу добу, а на 2-гу і 3-тю добу – на 8,5 % порівняно з контролем.

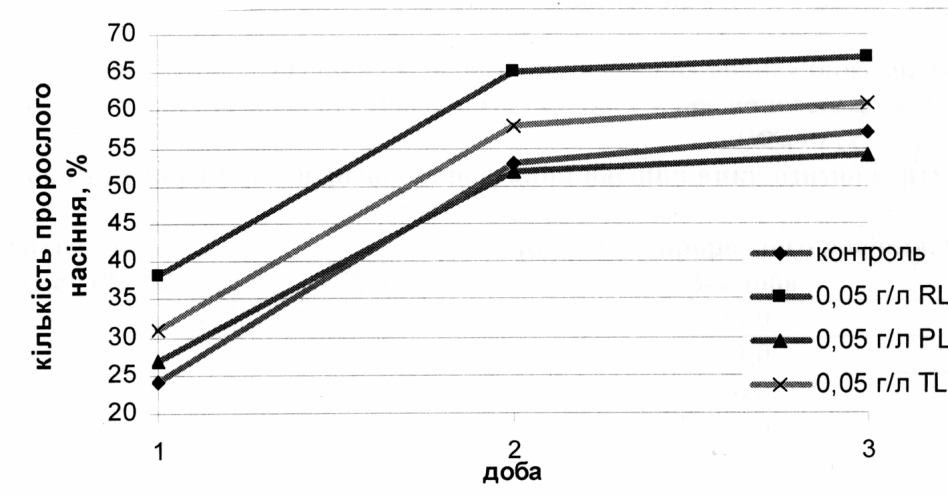


Рис.1. Енергія проростання насіння люцерни сорту Роксолана після обробки розчинами рамноліпідів (RL), трегалозоліпідів (TL), пептидоліпідів (PL)

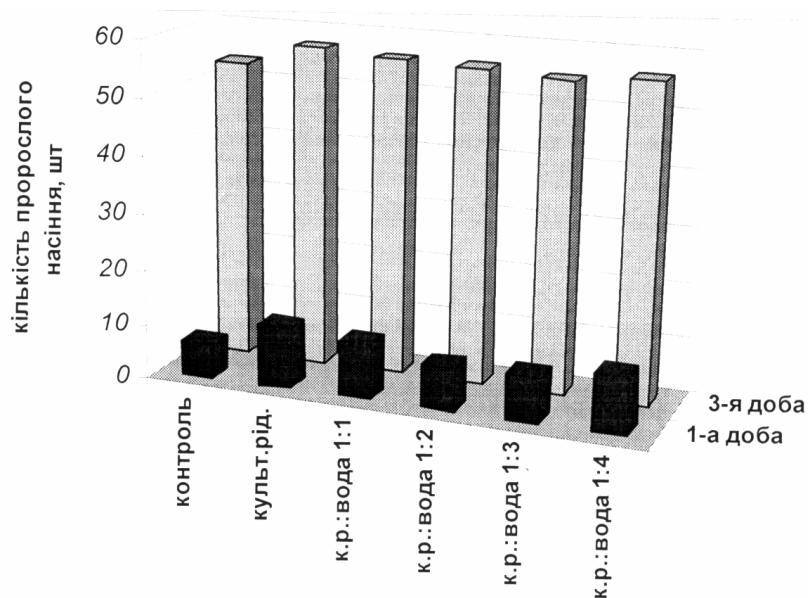


Рис. 2. Вплив різних концентрацій супернатанту культуральної рідини штаму *Pseudomonas sp. PS-17* на енергію проростання насіння люцерни сорту Роксолана

Таблиця 1

Вплив біокомплексу PS на енергію проростання насіння люцерни сорту Зайкевіч

Концентрація біокомплексу PS, %	Кількість пророслого насіння, %		
	1-ша доба	2-га доба	3-тя доба
контроль	4,0	27,5	48,0
0,005	18,5	36,0	56,5
0,001	9,5	25,5	51,0
0,0005	3,5	27,0	52,0

Також був здійснений аналогічний експеримент з вивчення впливу біокомплексу PS на енергію проростання насіння вики озимої сорту Львів'янка. Результати подано у табл. 2.

Вплив біокомплексу PS на енергію проростання насіння вики озимої сорту Львів'янка

Концентрація біокомплексу PS, %	Кількість пророслого насіння, %		
	2-га доба	3-тя доба	4-та доба
контроль	32,0	53,0	62,0
0,005	32,0	53,0	64,0
0,001	35,0	56,0	66,0
0,0005	30,0	57,0	70,0

Як видно із табл. 2, найбільший вплив на проростання вики озимої виявив біокомплекс PS у найменшій концентрації – 0,0005 %. Енергія проростання насіння збільшувалася на 8 % порівняно з контролем. Цей ефект виявлений тільки на четверту добу росту.

У всіх експериментах з вивчення впливу розчинів біоПАР різної концентрації на енергію проростання насіння люцерни і вики відзначено позитивний вплив на кондицію проростків: ростки виглядали міцнішими і більшими, ніж у контролі.

Висновки. Встановлено підвищення енергії проростання насіння деяких сільськогосподарських рослин під впливом їхнього передпосівного оброблення розчинами рамноліпідів і біокомплексу PS, що синтезуються штамом *Pseudomonas* sp. PS-17. Також відзначено вплив біоПАР на кондицію проростків люцерни і вики.

Дослідження виконані за проектом УНТЦ 3200.

1. Патица В.П., Коць С.Я., Волкогон В.В., Шерстобоева О.В., Мельничук Т.М., Калініченко А.В., Гриник І.В. Біологічний азот. – К.: Світ, 2003. – 422 с. 2. Толкачев Н.З., Дидович С.В. Эффективное средство повышения урожайности и плодородия почвы // 21.01.2003 "Хранение и переработка зерна. 3. Дятлова К.Д. Микробные препараты в растениеводстве // Соросовский образовательный журнал. 2001, Т. 7. – № 5. – С. 17–22. 4. Старченков Е. П., Коць С. Я. Биологический азот в земледелии и роль люцерны в пополнении его запасов в почве // Физиология и биохимия культ. растений. – 1992. – 24. – № 4. – С. 325–337. 5. Karpenko E., Lisova N., Scheglova N., Vildanova R., Pokynbroda T., Hamkalo Z. The perspectives of using ecologically safe surfactants for agriculture // In: Development in production and use of new agrochemicals, Chemistry for Agriculture / Edited by H.Gorecki, Zb. Dobrzanski, P. Kafarski – Chem-Pol Trade. – 2005. – Vol.6. – P. 786–793. 6. Karpenko O., Vildanova-Martishin R., Kolwzan B. New Ecologically Safe Biosurfactants // Proc. Second Sci. conf. "Surfactants and dispersed preparations in theory and practice". – Sci. Mater. – Wroclaw (Poland). – 2003. – P. 55–60. 7. Карпенко О.В., Мартинюк Н.Б., Шульга О.М., Вільданова Р.І., Покинсьброда Т.Я. Щеглова Н.С. Поверхнево-активний біопрепарат. Патент України № 71792 А (Заявка № 20031212346), 15.12.2004. 8. Донец А.Т., Кошелев В.В., Бехтерева М.Н. Качественное и количественное содержание липидов у бактерий // Микробиология. –1970. – Т.24. – № 2. – С.300–304. 9. Кучер Р.В., Шульга А.Н., Карпенко О.В., Елисеєв С.А., Туровский А.А. Поверхностно-активные пептидолипиды культуры *V.subtilis* // Докл. АН УССР, сер.Б.Геол. хим., биол.науки. 1990, №9, с.40-42.