

І. В. Карпенко¹, Г. Г. Мідяна¹, О. Я. Карпенко², І. С. Тимчук², В. І. Баранов³¹Відділення фізико-хімії горючих копалин ІнФОВ
ім. Л. М. Литвиненка НАН України,²Національний університет "Львівська політехніка",³Львівський національний університет імені Івана Франка

ПЕРСПЕКТИВИ РАМНОЛІПІДНИХ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН У ТЕХНОЛОГІЯХ ВИРОЩУВАННЯ СОНЯШНИКА

© Карпенко І. В., Мідяна Г. Г., Карпенко О. Я., Тимчук І. С., Баранов В. І., 2016

Показано, що за використання рамноліпідних ПАР штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 при вирощуванні соняшника у дрібноділянкових і виробничих дослідах підвищувалися його ростові показники та якість насіння (маса 1000 насінин, діаметр кошику, вмісту жиру і протеїну). Встановлено також високу ефективність біоПАР на соняшнику у виробничих дослідах порівняно зі стимулятором росту рослин Вимпел, що вказує на перспективність використання біогенних продуктів у сучасному рослинництві.

Ключові слова: рамноліпідні біоПАР, соняшник, ростові показники.

I. V. Karpenko, G. G. Midyana, O. Ya. Karpenko, I. S. Tymchuk, V. I. Baranov

PROSPECTS OF RAMNOLIPID SURFACTANTS IN TECHNOLOGY GROWING OF SUNFLOWERS

© Karpenko I. V., Midyana G. G., Karpenko O. Ya., Tymchuk I. S., Baranov V. I., 2016

It was shown that the use of ramnolipid surfactants of strain *Pseudomonas* sp. PS-17 in the cultivation of sunflower in small spot and industrial experiments raised its growth rates and quality of seeds (1000 seeds weight, diameter of basket, contain of fat and protein). It was determined also high efficiency of bioPAR on sunflower in industrial experiments in comparison with plant growth stimulant Vympel, indicating prospects of using biogenic products in the current plant growing.

Key words: ramnolipid bioPAR, sunflower, growth rates.

Постановка проблеми та її зв'язок з важливими науковими завданнями. Актуальною проблемою біотехнології і агропромислового комплексу є створення і впровадження екологічно безпечних препаратів для рослинництва з широким спектром дії. Це зумовлено значним забрудненням ґрунтів і продуктів харчування мінеральними добривами та пестицидами, які широко використовуються впродовж багатьох років. Зважаючи на екологічну загрозу, яку несуть синтетичні препарати, найперспективнішими вважають продукти біологічного походження. Вони здатні регулювати ріст рослин, пригнічувати різноманітні інфекції, не завдаючи шкоди довкіллю, оскільки є біодеградабельними і малотоксичними. На нашу думку, перспективним напрямком сучасної біотехнології є розроблення препаратів для рослинництва на основі біогенних поверхнево-активних речовин (біоПАР), що пов'язано з особливостями їх фізико-хімічних і біологічних властивостей [1,2]. Серед важливих сільськогосподарських культур у наш час олійні культури набувають все більшого значення в усьому світі у зв'язку з їх багатоцільовим призначенням: для виробництва різноманітних харчових продуктів (рослинні олії, маргарини, жири), кормів, а також

біодизельного пального. Макуха і шрот з насіння олійних рослин містять до 30–40 % цінного білка, тому їх використовують як протеїнові добавки для тварин та для збагачення комбікормів органічним фосфором і кальцієм. У сучасній альтернативній енергетиці багатьох країн світу олійні рослини є цінною сировиною для виробництва дизельного біопалива, отже, їх часто називають культурами третього тисячоліття. Отже, розроблення екологічно чистих препаратів для технологій вирощування олійних рослин є актуальною проблемою.

Аналіз останніх досліджень та публікацій. Відомо, що завдяки своїм особливим властивостям біогенні ПАР можна використовувати у технологіях вирощування сільськогосподарських рослин.

У лабораторії біотехнології Відділення фізико-хімії ГК ІнФОВ НАН України отримано та вивчено поверхнево-активні речовини, які є продуктами мікробного синтезу штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 – супернатант культуральної рідини, рамноліпіди, полісахариди та їх природні комплекси [3]. Результати дослідження свідчать, що рамноліпідні ПАР впливають на ростові показники рослин, тобто їх можна використовувати як регулятор росту, зокрема для передпосівного оброблення насіння [4, 5], позакореневого оброблення рослин [6], а також у складі комплексних біодобрив [7], композиціях із засобами живлення, захисту рослин, стимуляторами росту [8].

Мета роботи. Визначення ефективності використання рамноліпідних поверхнево-активних речовин штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 під час вирощування соняшника у польових умовах.

Матеріали і методи досліджень. Об'єктом досліджень були поверхнево-активні продукти біосинтезу культури *Pseudomonas* sp. PS-17 з колекції мікроорганізмів Відділення фізико-хімії ГК ІнФОВ ім. Л. М. Литвиненка НАН України, реєстраційний номер у Депозитарії ІМВ ім. Д. К. Заболотного *Pseudomonas* sp. ІМВ В-7434. Культивували продуцент у колбах Ерленмейєра (750 мл) з робочим об'ємом 150 мл на ротаційній качалці (220 об/хв) за температури 30 °С на рідкому поживному середовищі такого складу (г/л): NaNO_3 – 4,0; $\text{K}_2\text{HPO}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$ – 2,0; KH_2PO_4 – 1,2; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,5; цитрат Na – 5,0; гліцерин – 50 г/л. Термін культивування – 5 діб.

Супернатант культуральної рідини (СКР) отримували центрифугуванням при 6000 об/хв, 20 хв. Поверхнево-активний рамноліпідний біокомплекс (РБК), що складається з рамноліпідів і полісахариду (4:1), виділяли з СКР шляхом осадження 10 % розчином HCl при pH 3 [9].

У дослідженнях використовували соняшник сорту Чумак.

Передпосівне оброблення насіння соняшнику проводили за загальноприйнятою методикою [10]: відкаліброване насіння замочували впродовж 1 год у досліджуваних розчинах рамноліпідних ПАР (контроль – вода).

Визначали масу 1000 насінин згідно з ДСТУ [11], вміст протеїну – за методом Кьельдаля [12], вміст жиру у насінні – екстракцією, яку проводили діетиловим ефіром в апараті Сокслета [13].

Ефективність рамноліпідних ПАР під час вирощування соняшнику досліджували у дрібноділянкових експериментах (10 м²) у чотирьох повторях, а також у виробничих експериментах на дослідних полях Інституту сільського господарства Карпатського регіону НААН України, розмір яких становив 1 га.

Результати та обговорення. Встановлено ефективність передпосівного оброблення насіння соняшнику розчинами рамноліпідних ПАР штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 за ростовими характеристиками, а також якісними показниками врожаю. Так, результати дрібноділянкових експериментів показали, що у дослідних рослин, вирощених на ґрунті, величина площі листової пластинки збільшилася у 1,8 – 2 рази (рис. 1). Цей показник є важливим для розвитку рослин, оскільки відомо, що розвинена листкова поверхня сприяє збільшенню накопичення вегетативної маси рослин, крім того, існує навіть зв'язок між площею листової поверхні, чистою продуктивністю, накопиченням сухої маси та врожайністю.



Рис. 1. Вплив рамноліпідних ПАР *Pseudomonas* sp. PS-17 на розміри поверхні листової пластинки соняшника за передпосівного оброблення насіння: а – супернатант культуральної рідини; б – контроль (вода)

Збільшення асиміляційної поверхні листя може бути пов'язано з інтенсивністю процесів фотосинтезу у рослин, тому доцільно визначити вміст фотосинтетичних пігментів у листі соняшника (рис. 2).

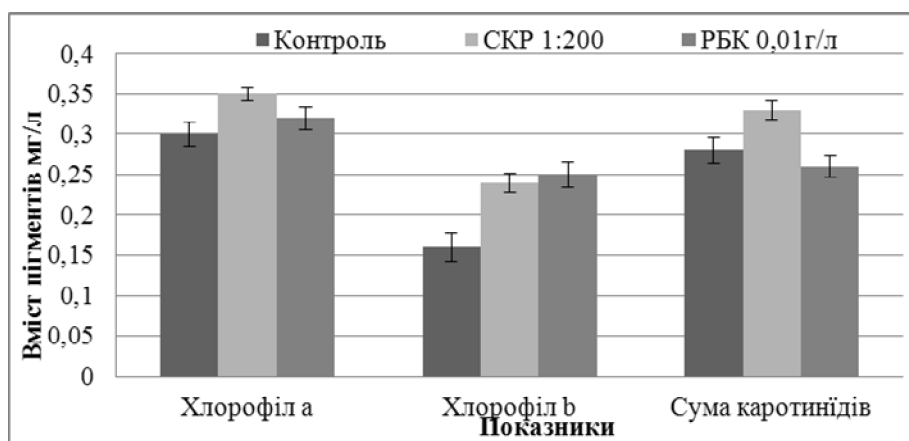


Рис. 2. Вплив біоПАР *Pseudomonas* sp. PS-17 на вміст пігментів фотосинтезу у листках соняшника за передпосівного оброблення насіння: СКР – супернатант культуральної рідини; РБК – рамноліпідний біокомплекс; контроль (вода)

Як свідчать дані, під впливом досліджуваних препаратів біоПАР підвищувався вміст хлорофілів *a* і *b*, а також суми каротиноїдів у листі соняшника. Отже, розроблені рамноліпідні ПАР сприяють активуванню окисно-відновних процесів у рослинах.

Встановлено ефективність застосування рамноліпідних ПАР штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 при вирощуванні соняшнику в дрібноділянкових дослідках у 2012 і 2013 роках – передпосівне оброблення насіння розчинами супернатанту культуральної рідини та рамноліпідного біокомплексу сприяло збільшенню продуктивності рослин, а також вмісту жиру і протеїну у насінні. Як свідчать результати (табл. 1), використання СКР і РБК сприяло підвищенню ростових показників соняшнику, зокрема діаметру кошика – у 2012 р. на 22,4 і 25,8 %, у 2013 р. – на 39,7–56,1 %, а також збільшенню маси 1000 насінин відповідно на 28,7–39,8 %, і 32,3–50,5 %. Крім того, покращувалися й якісні показники отриманого врожаю: вміст жиру у насінні зростав на 19,4–21,6 % (2012 р.) та 25–34,3 % (2013 р.) та вміст протеїну – на 9–10,2 % і 8–11,2 % відповідно.

Отримані результати вказують на значне підвищення важливих показників соняшника під дією рамноліпідних ПАР, що підтверджує ефективність використання розроблених біологічних препаратів. На нашу думку, одним з механізмів впливу поверхнево-активних речовин на проростання насіння може бути зміна проникності клітинних мембран у рослин, що сприяє прискоренню поглинання води, а також активуванню ферментних систем насіння. Описано вплив

біогенних ПАР рослинного походження на проникність клітинних мембран та підвищення активності ферментних систем рослин [14]. Найбільшу ефективність у наших дослідженнях проявив препарат на основі супернатанту культуральної рідини штаму *Pseudomonas* sp. PS-17, що може бути пояснено особливостями складу цього продукту. СКР є природним розчином рамноліпідних ПАР, і крім того, він містить інші продукти метаболізму мікробної клітини, найчастіше фітогормони, вітаміни, амінокислоти, органічні кислоти та інші речовини, які необхідні для рослин [15]

Таблиця 1

Вплив рамноліпідних ПАР штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 на ростові показники соняшника та якість врожаю в дрібноділянкових дослідах

Варіанти оброблення насіння	Діаметр кошика, см	Маса 1000 насінин, г	Вміст жиру у насінні, %	Вміст протеїну у насінні, %
2012 рік				
Контроль (вода)	11,6±0,58	59,80±2,95	35,13	13,10
РБК 0,01 г/л	14,2±0,73	83,64±4,15	42,72	14,15
СКР 1:200	14,6±0,81	77,00±3,65	41,95	14,27
2013 рік				
Контроль	9,8±0,49	48,21±2,25	27,39	14,32
РБК 0,01 г/л	13,7±0,65	63,78±3,18	34,30	15,54
СКР 1:200	15,3±0,71	72,55±4,35	36,80	15,93

Примітки: РБК – рамноліпідний біокомплекс; СКР – супернатант культуральної рідини.

Ефективність використання розроблених рамноліпідних ПАР при вирощуванні соняшника підтверджено результатами виробничого дослідження, проведеного на полях Інституту сільського господарства Карпатського регіону НААН України у 2014 р. (табл. 2).

Таблиця 2

Вплив рамноліпідних ПАР штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 на ростові показники соняшника та якість врожаю у виробничих умовах

Варіанти оброблення насіння	Діаметр кошика, см	Маса 1000 насінин, г	Вміст жиру у насінні, %	Вміст протеїну у насінні, %
2014 рік				
Контроль (вода)	14,5±0,72	96,61±4,83	39,55	16,96
Вимпел – К 1 л/т	20,5±1,02	120,48±4,81	42,69	17,80
РБК 0,01 г/л	19,9±1,19	146,42±7,11	41,52	16,65
СКР 1:200	21,0±1,05	158,37±7,05	45,87	18,32

Примітки: Вимпел – комплексний природно-синтетичний препарат для обробки насіння; РБК – рамноліпідний біокомплекс; СКР – супернатант культуральної рідини.

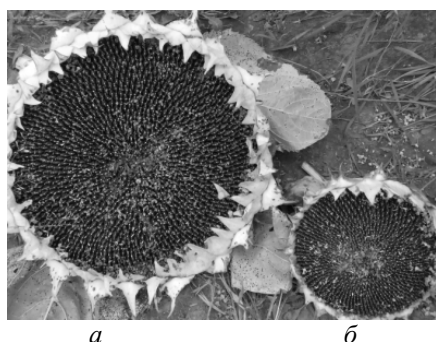


Рис. 3. Вплив рамноліпідних ПАР *Pseudomonas* sp. PS-17 (при передпосівному обробленні насіння) на розміри корзинки соняшника у виробничому експерименті 2014 р.
а – СКР – супернатант культуральної рідини (за розведення 1:200); б – контроль (вода)

У польових експериментах ефект рамноліпідних ПАР при вирощуванні соняшника досліджували порівняно зі стимулятором росту рослин Вимпел, які використовуються у сільському господарстві. Встановлено, що передпосівне оброблення насіння розчинами біоПАР (супернатанту культуральної рідини та рамноліпідного біокомплексу) сприяло збільшенню діаметру кошика

рослин на 37,2–44,8 %, тоді як при обробленні Вимпелом – на 41,4 % відносно контролю. Маса 1000 насінин також була більшою за контрольний варіант за використання біоПАР на 51,5–64 %, а з Вимпелом – на 24,6 %, вміст жиру у насінні соняшника підвищувався на 5–16 % (біоПАР) і на 8 % (Вимпел) та вмісту протеїну – на 8 % і 5 % відповідно (табл. 2).

Висновки. Встановлено, що за використання рамноліпідних поверхнево-активних речовин штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 у польових умовах було досягнуто підвищення ростових показників соняшника (маси 1000 насінин та діаметра кошика), а також якості отриманого насіння (вмісту жиру та протеїну). Найбільшу ефективність виявлено для препарату супернатанту культуральної рідини.

Показано, що у польових умовах при вирощуванні соняшнику стимулювальна дія рамноліпідних біоПАР мала чітко виражений характер, крім того, вони були ефективнішими порівняно із стимулятором росту Вимпел.

Отримані результати свідчать про перспективність використання рамноліпідних поверхнево-активних речовин у сільськогосподарській практиці при створенні ефективних екологічно безпечних препаратів для вирощування олійних культур.

1. Pacwa-Plociniczak PGA, Piotrowska-Seget Z, Cameotra SS 2011 Environmental applications of biosurfactants: recent advances. *Int J Mol Sci* 12:633–654.
2. Koglin A, Doetsch V, Bernhard F (2010) Molecular engineering aspects for the production of new and modified biosurfactants. *Adv Exp Med Biol* 672:158–169.
3. Экстракционное выделение биогенных поверхностно-активных рамнолипидов / И. В. Карпенко, Г. Г. Мидяна, Е. В. Карпенко, Е. Я. Пальчикова, Р. Г. Макитра // Журнал общей химии. – 2014. – Т. 84. – С. 1172–1175.
4. Карпенко І. В., Мідяна Г. Г., Карпенко О. Я., Баранов В. І. Вплив біогенних поверхнево-активних речовин на ріст олійних культур. Вісник Нац. ун-ту “Львівська політехніка” / Хімія, технологія речовин та їх застосування. – 2014. – № 787, 2014, – С. 254–257.
5. Карпенко О. В., Корецька Н. І., Щеглова Н. С., Карпенко І. В., Баранов В. І. Стимулювання росту злакових рослин поверхнево-активними рамноліпідами // *Biotechnologia Acta*. – 2013. – Т. 6. – № 6. – С. 94–99.
6. Pat. 652Z Republic of Moldova A01C 21/00 A01G 17/02 A01N 63/00 C05D 9/02. Process of cultivating cuttings of grape vines / Veliksar S., Lemanova N., Karpenko E., Shcheglova N.; applicant and owner Institute of Genetics, Physiology and Protection of Plants, Academy of Science of Republic of Moldova; sub. 03.10.2012; pub. 31.07.2013, BOPI No. 7/2013
7. Пат. 36704 Україна МПК A01N 25/30 A01N 59/06 A01N 63/00 C12N 1/20. Біопрепарат для бобових і злакових рослин / Лісова Н., Карпенко О. В., Вільданова Р. І., Щеглова Н. С., Козуб Ю. Б., Галан М. С., Наконечний М. В.; заявник і власник Н. Ю. Лісова, О. В. Карпенко. – № u200804304; заявл. 07.04.2008; опубл. 10.11.2008, Бюл. №21.
8. Карпенко Е. Использование биогенных поверхностно-активных веществ для повышения эффективности обработки семенного материала озимой пшеницы / Е. Карпенко, Н. Щеглова, В. Новик // *daRostim: IX міжнар. наук.-практ. конф., 7-10 жовтня 2013: тези допов.* – Львів, 2013. – С. 42–53.
9. Карпенко Е. В., Покинсьброд Т. Я., Макитра Р. Г., Пальчикова Е. Я. Оптимальные методы выделения биогенных поверхностно-активных рамнолипидов // *Журнал общей химии*. – 2009. – № 12. – 2011 с.
10. ДСТУ 4138-2002. Насіння сільськогосподарських культур. Методи визначення якості. Чинний від 2004-01-01. – К.: Держспоживстандарт України. – 2003. – 173 с.
11. ГОСТ 10842–89 (ISO 520–77) Зерно зернових і бобових культур та насіння олійних культур. Метод визначання маси 1000 зерен або 1000 насінин. Чинний від 30.06.1991, перевиданий 01.05.2009 – К.: Держспоживстандарт України.
12. ГОСТ 13496.4–93 Корми, комбікорми, комбікормова сировина. Методи визначання вмісту азоту і сирового протеїну. Чинний від 01.03.2002, перевиданий 19.01.2011. – К.: Держспоживстандарт України.
13. ГОСТ 10857–64 Насіння олійне. Методи визначання олійності. Чинний від 10.09.2010. – К.: Держспоживстандарт України.
14. Hoaland R. E. Effect of alfalfa saponins on in vitro physiological activity of soil and rhizosphere bacteria / R. E. Hoaland, R. M. Zablotowicz W. A. Oleszek // *Journal of Group Production*. – 2001. – Vol. 4, No. 2. – P. 349–356.
15. Егоров Н. С., Олескин А. В., Самуилов В. Д. Биотехнология: Проблемы и перспективы. – М.: Высш. шк., 1987. – 159 с.