

СТИМУЛЮВАННЯ РОСТУ ЗЛАКОВИХ РОСЛИН ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИМИ РАМНОЛІПІДАМИ

О. В. Карпенко¹
Н. І. Корецька¹
Н. С. Щеглова¹
І. В. Карпенко¹
В. І. Баранов²

¹Відділення фізико-хімії горючих копалин
Інституту фізико-органічної хімії і вуглехімії
ім. Л. М. Литвиненка НАН України, Львів
²Львівський національний університет ім. І. Франка, Україна

E-mail: e.v.karpenko@gmail.com, bio.lwiw@mail.ru

Отримано 12.03.2013

Досліджено вплив біогенних поверхнево-активних речовин, що синтезуються культурою *Pseudomonas* sp. PS-17, зокрема рамноліпідного біокомплексу, на ріст злакових рослин — пшениці та ячменю на різних стадіях вегетації, а також його дію на ефективність індоліл-3-оцтової кислоти. Вплив рамноліпідного біокомплексу на ростову активність пшениці озимої та ячменю ярого вивчали у вегетаційних (піщана культура) та польових дослідах за передпосівного оброблення насіння його розчинами різних концентрацій. Для дослідження механізму дії поверхнево-активного рамноліпідного біокомплексу на ріст рослинних клітин шляхом розтягнення використовували специфічний біотест на відрізках колеоптилів пшениці. Встановлено стимулювальний вплив рамноліпідного біокомплексу на ріст злакових рослин, а також його оптимальні концентрації для застосування під час передпосівного оброблення насіння: для пшениці озимої — 10 мг/л, для ячменю ярого — 50 мг/л. Використання рамноліпідного біокомплексу сприяло збільшенню сухої маси надземної частини пшениці на 16%, ячменю — на 18% порівняно з контролем ($P \leq 0,05$). Ефективність його дії доведено також у польовому експерименті — за передпосівного оброблення насіння ячменю ярого вегетативна маса рослин була в середньому на 34,0% більшою за контрольну ($P \leq 0,05$).

Одержані результати свідчать про перспективи практичного застосування рамноліпідних поверхнево-активних речовин як екологічно безпечних стимуляторів росту злакових рослин у сучасних технологіях рослинництва. Вони також можуть бути корисними у разі створення комплексних препаратів з індоліл-3-оцтовою кислотою та, ймовірно, і з іншими фітогормонами.

Ключові слова: злакові рослини, стимулювання росту рослин, біогенні поверхнево-активні речовини, рамноліпідний біокомплекс, індоліл-3-оцтова кислота.

Великою екологічною проблемою сучасного рослинництва є надмірне використання агрохімікатів, передусім мінеральних добрив та пестицидів. Це не тільки негативно впливає на якість сільськогосподарської продукції, а й призводить до деградації ґрунтів, забруднення води, спричинює зміни агробіоценозів. У зв'язку з цим актуальним є створення ефективних стимуляторів росту рослин, які будуть безпечними для довкілля. Пріоритетними серед них є біологічні препарати, які поєднують високу активність та біодеградабельність з низькою токсичністю. Експериментально підтверджено, що такі препарати, як Альбіт, Емістим С, Циркон, Хітозан, Stimplex, які було одержано мікробним синтезом, а також екстракцією з рослинної і тваринної сировини або водоростей, не поступаються за ефек-

тивністю синтетичним регуляторам росту, і водночас є економічно вигідними та екологічно безпечними [1–5].

Новим перспективним напрямом у рослинництві, на нашу думку, є використання поверхнево-активних речовин мікробного походження (біоПАР), що пов'язано з їхніми фізико-хімічними і біологічними властивостями. БіоПАР знижують поверхневий натяг рідин, мають емульгуювальну і змочувальну активність, позитивно впливають на проникність клітинних мембран та активність ензимів, ефективні за низьких концентрацій [6]. У лабораторії біотехнології Відділення фізико-хімії горючих копалин ІнФОВ ім. Л. М. Литвиненка НАН України одержано та вивчено поверхнево-активні речовини, які є продуктами мікробного синтезу бактерій родів *Pseudomonas*, *Gordonia*,

Rhodococcus (рамноліпіди, трегалозоліпіди, полісахариди та їх комплекси) [7, 8]. Проведені раніше дослідження свідчать, що застосування біоПАР для передпосівного оброблення насіння люцерни, озимої вики, ріпаку та інших рослин сприяє підвищенню енергії проростання та стимулює розвиток проростків [9]. У наш час для підвищення ефективності засобів стимулювання росту рослин, зокрема препаратів для позакореневого живлення, застосовують переважно синтетичні ПАР [10]. Використання біогенних ПАР у складі комплексних препаратів дасть змогу, на нашу думку, поєднати їхню високу ефективність з екологічною безпекою. Дію ПАР на ріст і розвиток злакових рослин вивчено недостатньо. У зв'язку з цим було досліджено вплив рамноліпідних ПАР мікробного походження на ріст пшениці озимої та ячменю ярого на різних стадіях вегетації.

Матеріали і методи

Об'єктами досліджень були екстрацелюлярний поверхнево-активний рамноліпідний біокомплекс (РБК), що складається з рамноліпідів і полісахариду (4:1) — продукт біосинтезу штаму *Pseudomonas* sp. PS-17. В експериментах використовували рослини — пшеницю озиму сорту Миронівська 65 та ячмінь ярий сортів Княжий і Вакула. РБК осаджували із супернатанта культуральної рідини 5-добової культури, додаючи 10 Н НС1 до рН 3,0 [11].

Передпосівне оброблення насіння проводили за загальноприйнятою методикою [12]: відкаліброване насіння замочували впродовж 1 год у водних розчинах РБК за концентрацій 10, 50 і 100 мг/л.

Веgetаційні дослідження з пшеницею та ячменем проводили у чотирьох повторях у посушинах зі стерильним піском (900 г) з додаванням живильного середовища Гельригеля [13], тривалість дослідів — 4 тижні. Польові експерименти з ячменем ярим сорту Вакула виконували на дослідних полях Наукового центру «Інститут сільського господарства Карпатського регіону НААН України» (Пустомитівський р-н Львівської обл.) упродовж 2008–2009 рр. з використанням стандартних методик [14]. Умови польового експерименту: ґрунт темно-сірий лісовий слабооглеюватий легкосуглинковий (рН 5,4–5,7), площа дослідних ділянок — 10 м²; експерименти проводили у трьох повторях. Відбір і аналіз надземної та кореневої маси рослин проводили на початку

фази виходу в трубку. Результати дослідів оцінювали за показниками схожості насіння та вегетативної маси рослин.

Вплив РБК та його суміші з індоліл-3-оцтовою (ІОК) кислотою на ріст відрізків колеоптилів пшениці (5 мм) вивчали у біотесті з використанням 2%-го розчину сахарози за величиною приросту колеоптилів пшениці за 24 год [15].

Для статистичного аналізу достовірності експериментальних даних застосовували методи варіаційної статистики [16] та програми Microsoft Office Excel 2003.

Результати та обговорення

У вегетаційних дослідях показано, що РБК, виділений з культуральної рідини *Pseudomonas* sp. PS-17, здатен стимулювати ріст злакових рослин (рис. 1).

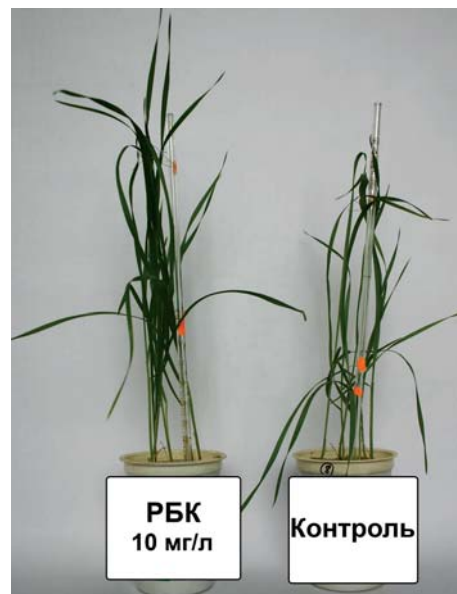


Рис. 1. Вплив рамноліпідного біокомплексу на ріст пшениці озимої сорту Миронівська 65

Встановлено, що ефективність дії РБК (за передпосівного оброблення насіння) залежить від концентрації його розчинів. За біометричними показниками росту рослин стимулювальна концентрація РБК для пшениці озимої становила 10 мг/л. При цьому схожість насіння зростала на 18% порівняно з контролем, суха маса надземної і кореневої частин — на 15,6% і 34,8% відповідно (* — $P < 0,05$, рис. 2, А).

Аналогічні результати одержано також за оброблення насіння ячменю ярого сорту Княжий. При цьому найбільшу стимулювальну дію РБК встановлено за його концентрації 50 мг/л: суха маса кореневої і надземної

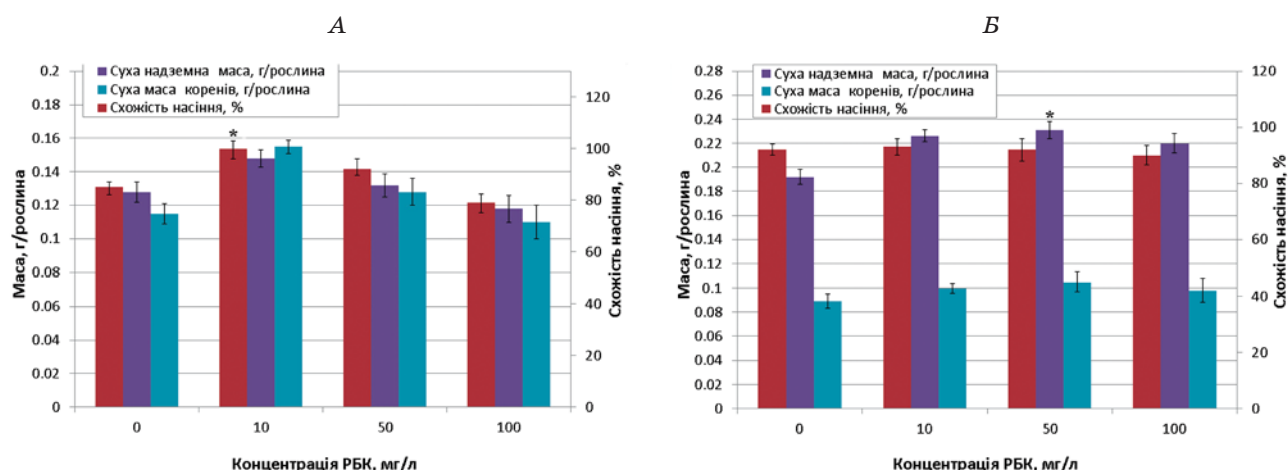


Рис. 2. Вплив рамноліпідного біокомплексу на приріст сухої маси кореневої і надземної частини злакових рослин:

А — пшениця озима сорту Миронівська 65; Б — ячмінь ярий сорту Княжий.
Тут і далі * — $P \geq 0,05$ порівняно з контролем (у даному разі нульова концентрація)

частини рослин збільшилася (порівняно з контролем) на 20,3% та 18,0% відповідно (* — $P \geq 0,05$, рис. 2, Б). У разі застосування РБК за концентрації 10 мг/л показники приросту надземної маси ячменю були дещо меншими. Необхідність застосування вищої концентрації РБК під час оброблення насіння ячменю зумовлена особливостями будови оболонки ячменю, зокрема наявністю квіткових плівок (paleae) та щільнішої, ніж у пшениці, насінневої оболонки (у ячменю вміст клітковини і пентозанів приблизно в 2 рази більший). Окрім того, у насіння ячменю міцніша клейковина, яка повільніше набухає у воді [17].

Ефективність дії РБК на ріст злакових культур підтверджено у польовому експерименті з ячменем ярим сорту Вакула. Так, у результаті оброблення насіння перед посівом розчином РБК (50 мг/л) встановлено суттєве зростання вегетативної маси ячменю: надземної — на 34,6%, кореневої — на 32,8% відносно контролю (таблиця).

За даними літератури, ймовірним поясненням стимулювального впливу ПАР на

ріст рослин є їхня здатність змінювати властивості поверхні кореня та сприяти його колонізації бактеріями [18]. Завдяки біоПАР може змінюватися також біодоступність поживних речовин та інших екзогенних сполук для рослин, що, очевидно, пов'язано з їх впливом на проникність клітинних мембран, а також змочування поверхонь [19]. Поліпшення росту рослин під дією ПАР (фосфоліпідів — лецитину та його гідролізату), що їх вносили у ґрунт, пов'язують також з активуванням метаболічних процесів ґрунтової мікрофлори [20].

Ми показали, що одним із пояснень дії поверхнево-активного РБК на злакові рослини може бути його стимулювальний вплив на ріст клітин шляхом розтягнення. У специфічному біотесті на відрізках колеоптилів пшениці, які інкубували у розчині сахарози з додаванням РБК за концентрації 1,0 або 10,0 мг/л, було встановлено, що приріст їхньої довжини був у середньому на 12% більшим, ніж у варіанті без РБК (* — $P \leq 0,05$, рис. 3).

Вплив рамноліпідного біокомплексу на приріст вегетативної маси ячменю ярого сорту Вакула (польовий експеримент)

Варіанти оброблення насіння	Суха маса надземної частини		Суха маса кореневої частини	
	г/10 рослин	% до контролю	г/10 рослин	% до контролю
Контроль (вода)	53,8±4,0		6,1±0,5	
Розчин РБК (50 мг/л)	72,4±6,8	34,6	8,1±0,6	32,8

Примітка: n = 30; усі показники дослідних варіантів вірогідно відмінні від контролю, $P \leq 0,05$.

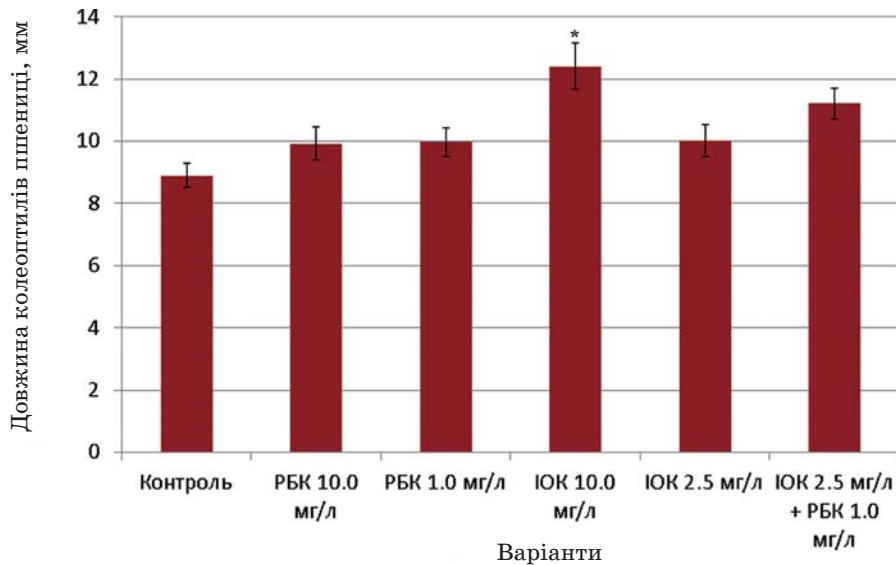


Рис. 3. Вплив рамноліпідного біокомплексу на ріст колеоптилів пшениці за дії індоліл-3-оцтової кислоти

Відомо, що ефект розтягнення клітин пов'язаний зі збільшенням поглинання води клітиною, а також активуванням ензимів — локалізованої у плазматичній мембрані Н+АТФ-ази та кислих гідролаз. Розтягнення клітинної стінки супроводжується також активуванням процесів синтезу целюлози і везикулярної секреції, яка постачає нові полісахариди для клітинної стінки у процесі росту. Враховуючи це, можна вважати, що одним з механізмів стимулювальної дії біоПАР на розтягнення клітин і, відповідно, на ріст рослин може бути вплив їх на активність мембранозв'язаних ензимів. Таке припущення підтверджується даними про здатність ПАР до підвищення активності низки ензимів [21, 22].

У біотестах на колеоптилях пшениці також встановлено, що РБК у композиції з ІОК (2,5 мг/л) сприяє підвищенню її дії на рослинні клітини, що наближається до ефекту ІОК за більшої концентрації — 10,0 мг/л. Так, якщо довжина відрізків колеоптилів під впливом ІОК за концентрації 2,5 мг/л збільшувалася лише на 12,6%, то в разі її застосування разом з РБК — на 26,0%. Ці результати свідчать про можливість використання біогенних ПАР для зменшення активної концентрації ІОК у складі комплексних стимуляторів росту рослин.

Аналогічний стимулювальний ефект біогенних ПАР на дію ІОК було встановлено нами раніше у біотесті на ризогенез живців

квасолі [23]. Поясненням такого впливу досліджених біоПАР на ефективність дії ІОК є, на нашу думку, підвищення проникності клітинних мембран, що підтверджують також дані літератури [19].

Одним із пояснень дії поверхнево-активного РБК на злакові рослини може бути його стимулювальний вплив на ріст клітин шляхом розтягнення. Приріст відрізків колеоптилів пшениці під впливом РБК був на 12,0% більшим, ніж у контролі. Встановлено також його здатність впливати на ефективність фітогормонів ауксинової природи, зокрема ІОК. Показано, що ефект ІОК за концентрації 2,5 мг/л у комбінації з РБК (10 мг/л) суттєво підвищувався — приріст відрізків колеоптилів був на 23,4% більший, ніж у варіанті без РБК, що наближується до дії ІОК за концентрації 10 мг/л.

Таким чином, встановлено, що рамноліпідні ПАР можуть бути ефективними екологічно безпечними стимуляторами росту злакових культур: за передпосівного оброблення насіння пшениці озимої та ячменю ярого вегетативна маса рослин збільшувалася на 18–33%. Завдяки своїм властивостям досліджені ПАР сприяють підсиленню дії ІОК. Це може бути використано під час розроблення комплексних стимуляторів росту, а також засобів живлення та захисту рослин, що сприятиме зменшенню екологічного навантаження на ґрунти.

ЛІТЕРАТУРА

1. Злотников А. К., Дёров А. И., Бегунов И. И., Злотников К. М. Альбит на озимой пшенице // Земледелие. — 2005. — № 3. — С. 31–32.
2. Биорегуляция микробно-растительных систем / Под общ. ред. Г. А. Иутинской, С. П. Пономаренко. — К.: Ничлава, 2010. — 463 с.
3. Wally O. S. D., Critchley A. T., Hiltz D. Regulation of Phytohormone Biosynthesis and Accumulation in Arabidopsis Following Treatment with Commercial Extract from the Marine Macroalga *Ascophyllum nodosum* // J. Plant Growth Regul. — 2013. — V. 32, N 2. — P. 324.
4. Ульяненко Л. Н., Арышева С. П., Филлипас А. С. и др. Влияние циркона на рост пшеницы и накопления Cd в урожае // С.-х. биол. — 2005. — № 1. — С. 39–43.
5. Тютюрев С. Л. Научные основы индуцированной болезнестойкости растений. — СПб.: РАСХН ВНИИЗР, 2002. — 328 с.
6. Muthusamy K., Gopalakrishnan S. R. Biosurfactants: properties, commercial production and application // Curr. Sci. — 2008. — V. 94. — P. 736–747.
7. Пат. України №71792А, 15. МПК C12N 1/02, C12R 1:38. Поверхнево-активний біопрепарат / О. Карпенко, Н. Мартинюк, О. Шульга, Т. Покинсьброда, Р. Вільданова, Н. Щеглова. — Заявл. 25.12.2003; Опубл. 12. 2004, Бюл. № 12.
8. Karpenko E. V., Vildanova R. I., Shcheglova N. S. et al. The prospect of using bacteria of genus *Rhodococcus* and microbial surfactants for degradation of oil pollutants // Appl. Biochem. Microbiol. — 2006. — V. 42, N 2. — P. 156–159.
9. Пат. № 77228 Україна, МПК (2013.01), A01P 21/00, A01N 63/00, C12N 1/02, C12R 1/38. Препарат комплексної дії для використання у сільському господарстві та рекультивациі техногенно змінених ґрунтів / О. Карпенко, Н. Щеглова, Р. Вільданова, А. Шульга, В. Баранов. — Заявл. 13.06.2012; Опубл. 11.02.2013, Бюл. №3.
10. Wiesman Z., Ahronovitz A., Ronen A. et al. Foliar fertilization with Olive Nutrivant for increase of olives and olive oil yields // Alon Hanotea. — 2002. — V. 56. — P. 128–132.
11. Карпенко Е. В., Покинсьброда Т. Я., Макитра Р. Г., Пальчикова Е. Я. Оптимальные методы выделения биогенных поверхностно-активных рамнолипидов // Журн. общ. химии. — 2009. — № 12. — 2011 с.
12. ДСТУ 4138-2002. Насіння сільськогосподарських культур. Методи визначення якості. Чинний від 2004-01-01. — К.: Держспоживстандарт України, 2003. — 173 с.
13. Сэги Й. Методы почвенной микробиологии (пер. с венг. И. Ф. Куренного). — М.: Колос, 1983. — 271 с.
14. Доспехов Б. Методика полевого опыта. — М.: Агропромиздат, 1985. — 351 с.
15. Кефели В. И., Турецкая Р. Х., Коф Е. М., Власов П. В. — В: Методы определения фитогормонов, ингибиторов роста, дефолиантов и гербицидов. — М.: Колос, 1973. — С. 7.
16. Лакин А. Н. Курс вариационной статистики. — К.: Вища школа, 1990. — 116 с.
17. Akbar N. Barley grain for ruminants: A global treasure or tragedy // J. Anim. Sci. Biotechnol. — 2012. — V. 3, N 22. — P. 1–9.
18. D'aes J., De Maeyer K. Pauwelyn D. Biosurfactants in plant — *Pseudomonas* interactions and their importance to biocontrol // Environ. Microbiol. Rep. — 2010. — V. 2, N 3. — P. 359–372.
19. Bunster L., Nyckle J., Schippers F. Effect of Surface-Active *Pseudomonas* spp. on Leaf Wettability // Appl. Environ. Microbiol. — 1989. — V. 55, N 6. — P. 1340–1345.
20. Pat.WO/1996/012685 US European Patent Office (EPO), PCT/EP1995/004004. Use of phospholipids to improve plant growth / Henkel C., Kopp-Holtwiesche A., Schlue W. — Publication date 02.05.1996.
21. Sandstrom R. P., Cleland R. E. Selective Delipidation of the Plasma Membrane by Surfactants Enrichment of Sterols and Activation of ATPase // Plant Physiol. — 1989. — V. 90, N 4. — P. 1524–1531.
22. Шумилина Е. В., Зоннова Н. Ю., Щупунов Ю. А. Влияние поверхностно-активных веществ на активность фосфолипазы DII // Биол. мембр. — 1998. — Т. 15, № 4. — С. 414–419.
23. Щеглова Н. С., Карпенко Е. В., Вильданова Р. И. и др. Влияние биогенных поверхностно-активных веществ на рост бобовых растений / Матер. Межд. конф. «Радостим», 24–25 ноября 2010, Краснодар. — С. 47–48.

СТИМУЛИРОВАНИЕ РОСТА ЗЛАКОВЫХ РАСТЕНИЙ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫМИ РАМНОЛИПИДАМИ

О. В. Карпенко¹, Н. И. Корецкая¹,
Н. С. Щеглова¹, И. В. Карпенко¹, В. И. Баранов²

¹Институт физико-органической химии
и углехимии им. Л. М. Литвиненко
НАН Украины, Львов

E-mail: e.v.karpenko@gmail.com

²Львовский национальный университет
им. И. Франко, Украина
E-mail: bio.lwiw@mail.ru

Исследовано влияние биогенных поверхностно-активных веществ, синтезируемых культурой *Pseudomonas* sp. PS-17, в частности рамнолипидного биоконплекса, на рост злаковых растений — пшеницы и ячменя на ранних стадиях вегетации, а также его действие на эффективность индолил-3-уксусной кислоты. Влияние рамнолипидного биоконплекса на ростовую активность озимой пшеницы и ячменя ярового изучали в вегетационных (песчаная культура) и полевом опытах после предпосевной обработки семян его растворами в различных концентрациях. Для исследования механизма действия поверхностно-активного рамнолипидного биоконплекса на рост растительных клеток путем растяжения использовали специфический биотест на отрезках coleoptилей пшеницы.

Установлено стимулирующее влияние рамнолипидного биоконплекса на рост злаковых растений, а также его оптимальные концентрации при предпосевной обработке семян: для пшеницы озимой — 10 мг/л, для ячменя ярового — 50 мг/л. Использование рамнолипидного биоконплекса способствовало приросту сухой массы надземной части пшеницы на 16%, ячменя — на 18% по сравнению с контролем ($P \leq 0,05$). Эффективность рамнолипидного биоконплекса доказана также в полевом эксперименте — после предпосевной обработки семян ячменя ярового вегетативная масса растений увеличилась в среднем на 34% ($P \leq 0,05$) по сравнению с контрольной.

Полученные результаты свидетельствуют о перспективах практического использования рамнолипидных поверхностно-активных веществ как экологически безопасных стимуляторов роста злаковых растений в современных агротехнологиях. Они могут быть также эффективными при создании комплексных препаратов с индолил-3-уксусной кислотой и, вероятно, с другими фитогормонами.

Ключевые слова: злаковые растения, стимулирование роста растений, биогенные поверхностно-активные вещества, рамнолипидный биоконплекс, индолил-3-уксусная кислота.

GRAMINEAE PLANTS GROWTH STIMULATION BY SURFACE-ACTIVE RHAMNOLIPIDS

O. V. Karpenko¹, N. I. Koretska¹,
N. S. Shcheglova¹, I. V. Karpenko¹,
V. I. Baranov²

¹Litvinenko Institut of Physical and Organic
Chemistry and Coal Fuel Chemistry of National
Academy of Sciences of Ukraine

E-mail: e.v.karpenko@gmail.com

²Franko Lviv National University, Ukraine
E-mail: bio.lwiw@mail.ru

The effect of biogenic surfactants which were synthesized by the culture *Pseudomonas* sp. PS-17, particularly rhamnolipid biocomplex, on the growth of cereal plants — wheat and barley in the early stages of vegetation, as well as its effect on the activity of indole-3-acetic acid was studied. The effect of rhamnolipid biocomplex on the growth activity of winter wheat and spring barley was studied in vegetation (sand culture) and field experiments with pre-sowing treatment of seeds with rhamnolipid biocomplex solutions of different concentrations. To investigate the action of surface-active rhamnolipid biocomplex on the extension growth of plant cells the specific biotest on sections of wheat coleoptiles was used.

The stimulating effect of rhamnolipid biocomplex on the growth of cereal plants, as well as the optimal concentration for its use in pre-sowing treatment of seeds was established: for winter wheat — 10 mg/l, for spring barley — 50 mg/l ($P \leq 0,05$). The application of rhamnolipid biocomplex contributed to the increase of aboveground dry weight of wheat on 16%, of barley — on 18% compared to the control ($P \leq 0,05$). Rhamnolipid biocomplex effectiveness was also confirmed in the field experiment — after the treatment of spring barley seeds the vegetative mass was averagely 34% ($P \leq 0,05$) higher than in the control.

The obtained results indicate the prospects of practical use of rhamnolipid surfactants as environmentally friendly growth stimulants for cereal plants for modern technologies in agriculture. They can be effective in creating complex preparations with indole-3-acetic acid and, possibly also with other phytohormones, that will allow the enhancement of their activity.

Key words: Gramineae plants, stimulation of plant growth, biogenic surfactants, rhamnolipids, indole-3-acetic acid.