

ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СТИМУЛЯЦИИ ЯРОВОГО РАПСА БИОПРЕПАРАТАМИ СТРЕПТОМИЦЕТА

И. В. Жерносекова, Н. П. Черногор, О. А. Тимчук, А. И. Винников
Дніпропетровський національний університет ім. О. Гончара
ЕКОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ СТИМУЛЯЦІЇ ЯРОГО РІПАКУ
БІОПРЕПАРАТАМИ СТРЕПТОМІЦЕТУ

Досліджено дію біологічних препаратів стрептоміцету *Streptomyces recifensis* var. *lyticus* на сільськогосподарській культурі ярого ріпаку *Brassica narus oleifera*. Виявлено стимулюючий ефект дії біопрепаратів ГЗХ та культуральної рідини на морфометричні і біохімічні параметри рослин у лабораторних та польових дослідах. Рівень стимуляції в порівнянні з контролем досягав 1,2–7,0 разів.

Ключові слова: біологічні препарати, ярий ріпак, стимуляція, стрептоміцети.

I. V. Zhernosekova, N. P. Chernogor, A. A. Tymchuk, A. I. Vynnikov
O. Gonchar Dnipropetrovsk national university
THE ECOLOGICAL ASPECTS OF THE SPRING RAPE STIMULATION
WITH THE STREPTOMYCETE BIOPREPARATIONS

The effect of the biological preparations of *Streptomyces recifensis* var. *lyticus* on the spring rape *Brassica narus oleifera* was investigated in the present paper. Stimulating effect of the PZH biopreparations and cultural liquids on the morphological and biochemical parameters of plants was observed during a laboratory and field investigations. A level of stimulation of such a plants is 1,2–7,0 times as big as level of stimulation of reference samples.

Key words: biological preparations, spring rape, stimulation, streptomycetes.

Обострившаяся экологическая обстановка, связанная с загрязнением окружающей среды, все больше диктует необходимость применения в растениеводстве экологически безопасных биологических препаратов – регуляторов роста. В погоне за большими урожаями почти бесконтрольно применяются химические препараты, которые наносят большой вред экологии. Химические вещества накапливаются в почвах, опасны для теплокровных животных и человека, нарушают стабильность агроэкосистем. Альтернативными являются биопрепараты, главное преимущество которых – высокая избирательность действия, способность регулировать численность одного или группы видов, не затрагивая природные биоценозы полезных организмов. Использование таких препаратов сопровождается накоплением биологического азота, интенсификацией роста и развития растений, повышением их устойчивости к стрессам и снижением уровня заболеваний, получением экологически безопасной продукции, а также снижением темпов разложения гумуса (Полянская, 2002; Романовская, 2002; пат. Россия, 2006; Побода, 2007; Маліновська, 2007).

Известно, что микроорганизмы разных родов, являясь потенциальными стимуляторами для растений, улучшают их состояние за счет продуцирования различных метаболитов, стимуляторов роста (Полянская, 2002). Так, актиномицеты являются активными продуцентами витаминов, аминокислот, гетероауксинов и других стимуляторов роста, которые не чужеродны растительным организмам, мягко действуя, регулируют отдельные процессы онтогенеза – стимулируют либо подавляют их (Расти-мешина, 2000; Перевалов, 2001; пат. Россия, 2005). Большинство биопрепаратив на основе производственных штаммов микроорганизмов являются неинфективными для живого организма, что свидетельствует о непатогенности, а значит, и об их безвредности (Омельянец, 2008). В настоящее время создано достаточно много биологических препаратов для стимулирования роста растений и защиты их от различных забо-

леваний, представляющих собой активную культуру-стимулятор в виде сухого лиофилизированного препарата либо в виде культуральной жидкости (далее – КЖ) в различной концентрации (Полянская, 2002; Патыка, 2004; пат. Россия, 2006; пат. Россия, 2007).

Перспективным, экологически безопасным препаратом, обладающим широким антимикробным спектром действия и стимулирующим эффектом, является препарат на основе синтеза *Streptomyces recifensis* var. *lyticus*. Целью работы было изучить стимулирующее действие различных видов биопрепаратов стрептомицета на семенах ярового рапса *Brassica narus oleifera*. Как известно, масличная культура рапс, в семенах которого содержится до 50 % масла и до 30 % белка, широко используется как продукт питания, кормовая культура, как хороший медонос, а также в разных областях промышленности – металлургической, текстильной, мыловарной, лакокрасочной (Ліхочвор, 2004). Являясь ценным предшественником для зерновых культур, он мало высушивает почву, улучшает ее агрофизиологические свойства и фитосанитарное состояние. Корневая система, глубоко проникая в грунт, улучшает его структуру, распушивая последний. Кроме того, на основе рапса разработаны эффективные технологии производства горючего для двигателей. Занимая 4-е место в мировом производстве среди масличных культур после сои, арахиса, подсолнечника, данная культура привлекла наше внимание, что и послужило основанием для проведения экспериментальных исследований.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектом исследования были разные формы биопрепаратов на основе синтеза стрептомицета – промышленный образец ГЗХ родительского штамма 2435 и лабораторный образец – культуральная жидкость рифампициноустойчивого мутанта 2Р-15, которые испытывались на семенах ярового рапса в двух концентрациях – 2,5 %, 5,0 % для ГЗХ и 0,8 %, 1,5 % – для КЖ.

В лабораторных исследованиях семена ярового рапса в количестве 50 шт. помещали в чашки Петри на фильтровальную бумагу, увлажненную биопрепаратами. Обработку проводили в течение 24 ч при $t=22^{\circ}\text{C}$. Контрольные семена увлажняли дистиллированной водой. По истечении 72 ч культивирования подсчитывали энергию прорастания семян, измеряли длину корня и колеоптеля. Активность ферментов кислых протеиназ семян определяли по методике Blanka (Blanka, 1990), активность пероксидазы корней – методом Бояркина (Бояркин, 1951), содержание пигментов в листьях – методом Кгура (Кгура, 1995), белок в экстрактах семян и корней – методом Bradford (Bradford, 1976). Сравнивали действие биопрепаратов стрептомицета на морфометрические и биохимические показатели рапса с действием коммерческого химического препарата Престиж фирмы *Bayer Crop Science* (Германия) в рекомендуемой производителем концентрации 5,0 %. Исследования проводили в трех повторностях и статистически обрабатывали с достоверностью 95 %.

В полевых опытах, проведенных на экспериментальных полях Днепропетровского государственного аграрного университета, испытывали по одной концентрации биопрепаратов, которые показали лучший результат в лабораторных экспериментах (2,5 % – для ГЗХ и 0,8 % – для КЖ). Обработку семян (700 г) проводили так же, как и в случае лабораторных исследований. После обработки семена высушивали на воздухе при $t=22^{\circ}\text{C}$ и высевали в грунт. По истечении 60 и 100 суток вегетации у растений измеряли морфометрические и некоторые биохимические параметры.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате обработки семян ярового рапса биопрепаратами стрептомицета и химпрепаратом Престиж у проростков были выявлены морфометрические различия. Как видно из табл.1, меньшие концентрации биопрепаратов способствовали увеличению энергии прорастания семян на 7,6 % и угнетали ее на 18,8 % и 2,5 % при повышении концентрации вдвое для соответствующих препаратов ГЗХ и КЖ, при этом химпрепарат также ингибировал данный параметр на 4,2 %.

Таблица 1

Морфометрические показатели ярового рапса при обработке семян био- и химпрепаратами

Концентрация препарата, %	Энергия прорастания, %		Корень, мм			Колеоптень, мм		
	$\bar{X} \pm m$	% от К	$\bar{X} \pm m$	% от К	Коэф. различия	$\bar{X} \pm m$	% от К	Коэф. различия
Контроль	87,7±1,13	100	8,1±0,41	100	1,0	6,6±1,46	100	1,0
ГЗХ 2,5	94,4±2,20 p<0,05	107,6	12,0±2,90 p<0,05	148,0	1,5	6,5±1,92 p<0,05	98,5	0,9
ГЗХ 5,0	71,1±2,94 p<0,05	81,2	8,0±2,69 p<0,05	98,8	1,0	3,7±0,82 p<0,05	56,1	0,5
КЖ 0,8	24,4±1,10 p<0,05	107,6	10,3±1,45 p<0,05	127,2	1,3	4,6±0,91 p<0,05	69,7	0,7
КЖ 1,5	85,5±1,10 p<0,05	97,5	10,8±3,31 p<0,05	133,3	1,3	3,4±1,13 p<0,05	51,5	0,5
Престиж 5,0	84,4±2,20 p<0,05	95,8	7,4±3,73 p<0,05	91,3	0,9	4,0±1,29 p<0,05	60,6	0,6

Установлено, что биопрепараты стимулировали длину корня рапса в пределах от 27 % до 48 %. Химпрепарат вызывал ингибирование данного параметра на 8,7 %. Что касается колеоптеля, то ни один из препаратов не оказывал положительного действия на его развитие. Исследование активности ферментов кислых протеиназ семян рапса показало, что только биопрепараты в меньших испытываемых концентрациях способствовали ее увеличению на 12,7 % (ГЗХ) и 23,4 % (КЖ), что сопровождалось повышением удельной активности в 1,6 и 5,4 раза (табл. 2).

Таблица 2

Активность кислых протеиназ семян и пероксидазы корней ярового рапса при обработке био- и химпрепаратами

Концентрация препарата, %	Активность кислых протеиназ, ПЕ				Активность пероксидазы, Е/с			
	$\bar{X} \pm m$	% от К	ПЕ/мг	Коэф. различия	$\bar{X} \pm m$	% от К	Е/с·мг	Коэф. различия
Контроль	0,47±0,12	100	1,14±0,26	1,0	1,40±0,10	100	46,6±5,7	1,0
ГЗХ 2,5	0,53±0,33 p<0,05	112,7	1,80±0,68 p<0,05	1,6	1,90±0,46 p<0,05	135,7	95,0±3,4 p<0,05	2,0
ГЗХ 5,0	0,42±0,16 p<0,05	89,4	1,25±1,11 p<0,05	1,1	1,25±0,28 p<0,05	89,3	62,5±2,3 p<0,05	1,3
КЖ 0,8	0,58±0,06 p<0,05	123,4	6,17±0,63 p<0,05	5,4	1,84±0,15 p<0,05	131,4	92,0±5,6 p<0,05	2,0
КЖ 1,5	0,12±0,02 p<0,05	25,5	1,28±1,01 p<0,05	1,1	1,89±0,51 p<0,05	135,0	94,5±18,1 p<0,05	2,0
Престиж 5,0	0,08±0,10 p<0,05	17,6	0,21±0,40 p<0,05	0,2	0,51±0,10 p<0,05	36,4	17,0±7,0 p<0,05	0,4

Такую реакцию протеиназ ряд авторов объясняет не только интенсификацией гидролиза запасных белков в зерне на начальных этапах прорастания, а и активацией реакции переаминирования аспарагиновой и глутаминовой аминокислот, что обеспечивает пластическим материалом (α -кетоглутаровая, щавелевоуксусная, пировиноградная кислоты) развивающийся проросток (Рябченко, 2000). Химпрепарат Престиж угнетал активность ферментов на 82,4 %. Как видно из табл.2, активность пероксидазы корней рапса подобно протеиназе увеличилась только под действием препаратов стрептомицета. Эффект стимуляции, колеблющийся в пределах от 31,4 % до 35,7 %, сопровождался повышением удельной активности фермента в 2,0 раза. Пероксидаза считается индуцибельным белком, реагирующим на любое воздействие, что позволяет четко регистрировать первичные изменения в растительных тканях. Большое ко-

личество литературных источников объясняет повышение активности фермента его участием в ростовых процессах, окислительно-восстановительных реакциях, а также мобилизацией энергетических процессов в защитных механизмах и адаптацией растений к неблагоприятным факторам среды (Рябченко, 2000; Калашникова, 2003). Химический препарат Престиж, как и в случае протеиназы, ингибировал активность пероксидазы, угнетение которой составило 63,6 %. Литературные данные и интернет-источники указывают не только на известные свойства препарата-протравителя Престиж – защиту растений от вредителей и болезней, но и на эффект стимуляции роста и развития растений, чем и привлек наше внимание. Однако в большинстве случаев лабораторных экспериментов на яровом рапсе мы получили ингибирующий эффект химпрепарата.

Проведены исследования содержания пигментов в листьях семисуточных проростков рапса, семена которого обрабатывали только биопрепаратами стрептомицета. Из рис. 1 видно, что промышленный ГЗХ и лабораторный КЖ препараты увеличили концентрацию пигментов хлорофилла *a* на 32 %–80 %, хлорофилла *b* на 10 %–58 %, каротиноидов на 46 %–128 %, при этом максимальный показатель по сравнению с контролем был выше в 1,8; 1,6; 2,3 раза соответственно. Полученные данные могут косвенно свидетельствовать об интенсификации развития надземной части растения.

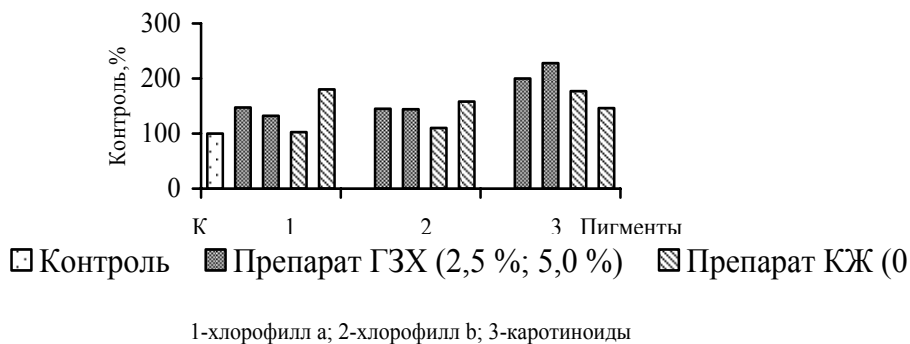


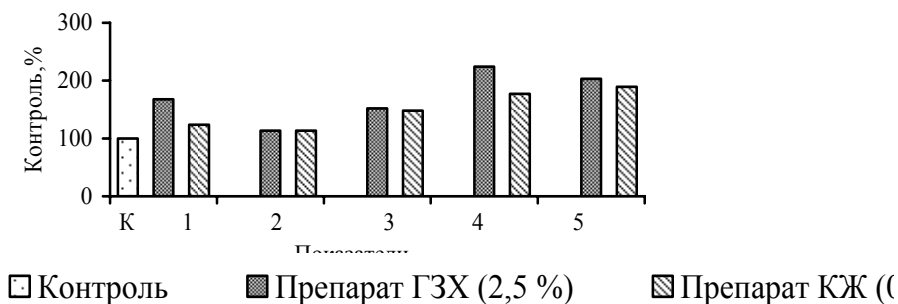
Рис. 1. Распределение пигментов (1 – хлорофилл *a*; 2 – хлорофилл *b*; 3 – каротиноиды) в листьях 7-суточной культуры рапса при обработке биопрепаратами

Для проверки этого предположения, а также исходя из литературных данных о стимулирующей способности многих микроорганизмов и их метаболитов, а особенно стрептомицетов (Растимешина, 2000; Перевалов, 2001; *Hu Jiangchun*, 2002; пат. Россия, 2005), были проведены эксперименты в полевых условиях при соблюдении технологии обработки семян.

Анализируя морфометрические и биохимические показатели 60 суточных растений в условиях полевого эксперимента, было показано, что значительное увеличение большинства изучаемых параметров происходило при воздействии лабораторного препарата КЖ (табл. 3).

Данный препарат стимулировал морфометрические показатели и активность пероксидазы в пределах от 3,1 % до 67 %, в то же время промышленный препарат ГЗХ проявил меньшее стимулирующее действие относительно длины стебля и активности фермента. Подобные изменения биохимических показателей корня описаны в литературе при воздействии на растения внеклеточными протеазами бактерий (Калашникова, 2003). Как видно из табл.3, концентрация пигментов в большей степени увеличена при обработке семян препаратом ГЗХ, уровень которой для хлорофилла *a* и *b* превысил контрольный на 15 % и 18 % соответственно, а для каротиноидов – на 600 %. Лабораторный препарат усилил концентрацию только каротиноидов на 109 %. Известно, что повышенное содержание хлорофилла обеспечивает более интенсивный фотосинтез, быстрый рост побегов, активное использование водных и минеральных ресурсов среды и в конечном счете повышает конкурентную мощь вида в фитоценозе (Рожанская, 1982).

Исследование 100 суточных культур рапса подтвердило правомерность вышесказанного, препарат ГЗХ не только стимулировал повышенное содержание хлорофилла, но и увеличил вес корня на 67,6 %, вес растений на 52 %, количество стручков, содержащих незрелые семена, на 124,3 % и вес стручков на 103,2 %, что отражено на рис. 2.



К – контроль; 1 – вес корня; 2 – длина стебля; 3 – вес растения;
4 – количество стручков; 5 – вес стручков

Рис. 2. Морфометрические показатели 100-суточных растений рапса в условиях полевого эксперимента

Лабораторный препарат КЖ также проявил стимулирующий эффект, но меньшей интенсивности, в отношении 100-суточных растений. Можно предположить, что оба препарата в подобранных концентрациях, оказывая позитивное влияние на морфобиохимические показатели ярового рапса, проявили свою стимулирующую активность на разных временных стадиях развития растения. Начиная с начальных этапов онтогенеза до 60 суток включительно активнее воздействует препарат КЖ, а в поздних периодах развития (100 суток вегетации) – препарат ГЗХ. Ввиду того что дополнительное внесение бактерий в почву играет определенную роль в почвообразовательных процессах, полагаем, что исследованные биопрепараты окажут положительное действие на микробиоценоз почвы, повысят урожайность растений и улучшат состояние окружающей среды.

ВЫВОДЫ

1. В лабораторных исследованиях был обнаружен стимулирующий эффект морфобиохимических показателей ярового рапса под влиянием биопрепаратов в концентрациях 2,5 % (ГЗХ) и 0,8 % (культуральная жидкость), в то время как химпрепарат не оказал стимулирующего действия.

2. Эффект стимуляции морфометрических и биохимических параметров рапса в условиях лабораторного эксперимента составил 1,2–5,4 раза.

3. Стимуляция растительной культуры в условиях полевого эксперимента достигла 1,2–7,0 раза.

* * *

Авторы выражают искреннюю благодарность сотрудникам кафедры общего земледелия ДГАУ И. Х. Узбеку, Т. П. Килочек, Ю. В. Амброзьяк за сотрудничество и помощь в проведении полевых испытаний.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Бояркин А. Н. Быстрый метод определения активности пероксидазы // Биохимия. – 1951. – Т. 16, вып. 4. – С. 352-357.
Калашникова Е. Е. Внеклеточные протеазы фитопатогенных бактерий *Xanthomonas campestris* / Е. Е. Калашникова, М. П. Чернышева, В. В. Игнатов // Микробиология. – 2003. – Т. 72, № 4. – С. 498-502.
Ліхочвор В. В. Рослинництво. Технології вирощування сільськогосподарських культур. – К.: Центр навч. літ., 2004. – 808 с.

Маліновська І. М. Вплив комплексної обробки *Agrobacterium radiobacter* та фосформобілізуючими мікроорганізмами на врожайність ярої пшениці / І. М. Маліновська, О. О. Черниш // 36. матеріалів наук. практ. конф. «Алелопатія та азотфіксація в агроєкосистемах». – Х., 2007. – С. 100-102.

Омельянец Т. Г. Оцінка безпеки продуктів мікробної біотехнології і гігієнічне регламентування / Т. Г. Омельянец, Н. К. Коваленко, Т. М. Головач // Мікробіологічний журнал. – 2008. – Т. 70, № 2-3. – С. 124-128.

Пат. 2267531 Россия МПК С 12 N 1/2 Способ получения биопрепарата для защиты растений от болезней, стимуляции корнеобразования и роста сельскохозяйственных и декоративных растений / П. Б. Авчиева, И. А. Буторова, И. С. Переверзева и др. – № 2003135678 / 13. Заяв. 08.12.2003; Оpubл. 10.01.2006 // Бюл. № 01.

Пат. 2261902 Россия МПК7 С 12 № 1/20, А 01 N Штамм актиномицета *Streptomyces lateritius* 19/97 – М, используемый для стимулирования роста и защиты сеянцев хвойных от возбудителей болезней, вызываемых грибами родов *Fusarium* и *Alternaria* / Т. И. Громовых, Ю. А. Литовка, В. С. Садкова. – № 20003100579/13 Заяв. 08.01.2003; Оpubл. 10.10.2005 // Бюл. № 28.

Пат. 2302114 Россия МПК А 01 N 1/20 Препарат «Эстрагран» для стимуляции роста и защиты растений от болезней / А. А. Иванов. – № 2005130793 / 13 Заяв. 05.10.2005; Оpubл. 10.07.2007 // Бюл. № 19.

Патика В. П. Застосування нового біопрепарату азохетоміка для підвищення врожайності ярого ячменю / В. П. Патика, С. П. Копилов, С. П. Надкєрничний // Агроєкологічний журнал. – 2004. – № 4. – С. 23-26.

Перевалов Р. Г. Рост изолированных латеральных почек гвоздики *Dianthus cariophyllus* на средах с добавлением экзометаболических *Streptomyces canosus* / Р. Г. Перевалов, И. О. Растишешина, С. А. Бурцева и др. // Биотехнология. – 2001. – № 4. – С. 66-73.

Побода Л. В. Алелопатична стимуляція біологічної фіксації азоту // 36. матеріалів наук. практ. конф. «Алелопатія та азотфіксація в агроєкосистемах». – Х., 2007. – С. 74-83.

Полянская Л. М. Стимуляция роста растений культурами *Beierinckia* и *Clostridium* / Л. М. Полянская, О. Т. Вєдина, Л. В. Лысак и др. // Микробиология. – 2002. – Т. 71, № 1. – С. 123-129.

Растишешина И. О. Стимуляция прорастания семян огурцов метаболитами актиномицетов // Междунар. науч.-практ. конф. «Селекция и семеноводство овощных культур в XXI веке». – М., 2000. – С. 180-181.

Рожанская О. А. Влияние удобрений и многократного скашивания на содержание хлорофилла в листьях *Filipendula ulmaria* (L) // Бюл. Моск. о-ва испытателей природы. – 1982. – Т. 87, вып. 5. – С. 72-76.

Романовская Т. В. Биопрепарат Энатин с широким спектром антимикробного действия / Т. В. Романовская, Э. И. Коломиец, Н. А. Здор и др. // Прикладная биохимия и микробиология. – 2002. – Т. 38, № 6. – С. 669-676.

Рябченко Н. А. Адаптогенез растений к пестицидам / Н. А. Рябченко, Н. П. Коцюбинская, Е. В. Домашнева. – Д.: Пороги, 2000. – 193 с.

Blanca San Segundo, Casacuberta Josep M., Puigdomenech Pere. Sequential expression and differential hormonal regulation of proteolytic activities during germination in *Zea mays* L // Planta. – 1990. – 181. – P. 467-474.

Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein – dye – binding // Anal. Biochem. – 1976. – Vol. 721. – P. 1117-1123.

Hu Jiangchun, Xue Delin, Wang Shuijn Vinyong shengtai xuebao // Chin. J. Appl. Ecol. – 2002. – Vol. 13, № 9. – P. 1095-1098.

Krupa Z., Baszynski T. Some Aspects of Heavy Metals Toxicity Towards Photosynthetic Apparatus – Direct and Indirect Effects on Light and Dark Reactions // Acta Physiol. Plant. – 1995. – Vol. 17. – P. 177-190.

Надійшла до редколегії 11.09.08