Ministry of Education and Science of Ukraine
Odessa I.I. Mechnikov National University, Ukraine
Institute of Applied Biotechnology daRostim, Germany
Society of Microbiologists of Ukraine
Society of Biologists and Biotechnologists of Odessa, Ukraine

XII International scientific-applied conference

# BIOTECHNOLOGY FOR AGRICULTURE AND ENVIRONMENTAL PROTECTION

PROCEEDINGS

07-10 September 2016, Odessa, Ukraine

UDC 606:[631+502](063)
BBC 30.16я431
B60

XIIth International Scientific and Practical Conference
daRostim 2016

**BIOTECHNOLOGY FOR AGRICULTURE AND ENVIRONMENTAL PROTECTION**:
Proceedings - Odessa: I.I. Mechnikov Odessa National University, 2016 - 244 p.

In the proceedings are published materials of the XIIth International Scientific and Practical Conference daRostim 2016 "**BIOTECHNOLOGY FOR AGRICULTURE AND ENVIRONMENTAL PROTECTION**", which was focused on the study of microorganisms and their role in natural ecosystems, in natural and synthetic compounds as plant growth regulators and for plant protection, the development of biotechnology in agricultural production to protect the environment and the disposal of industrial waste.

Reports saved the author's style. The authors are solely responsible for the content of the reports.

Edited by:
**Prof. Dr. Ivanytsia V.A.**
**Prof. Dr. Nowick W.**
**Dr. Blayda I.A.**
**Dr. Vasileva N.Yu.**

Desktop publishing, cover design by:
**Valentina Klebanova**

ISBN 978-617-689-179-6

***Contents***

## ПРОГРАМНИЙ КОМІТЕТ КОНФЕРЕНЦІЇ

***Іваниця Володимир Олексійович*** - голова, д.б.н., проф. (Одеса, Україна)
***Підгорський Валентин Степанович*** – співголова, академік НАН України, д.б.н., проф. (Київ, Україна)

***Члени програмного комітету:***
***Вінніков Альберт Іванович*** – д.б.н., проф. (Дніпро, Україна)
***Волкогон Віталій Васильович*** - д.б.н., проф. (Чернігів, Україна)
***Галкін Борис Миколайович -*** д.б.н., проф. (Одеса, Україна)
***Гнатуш Світлана Олексіївна*** - к.б.н., доц. (Львів, Україна)
***Іутинська Галина Олександрівна*** - член-кор. НАН України, д.б.н., проф. (Київ, Україна)
***Курдиш Іван Кирилович*** - д.б.н., проф. (Київ, Україна)
***Новик Вольфганг*** - д.н., проф. (Ліхтенштайн, Німеччина)
***Новіков Володимир Павлович*** - д.б.н., проф. (Львів, Україна)
***Патика Микола Володимирович*** - д.б.н., проф. (Київ, Україна)
***Пироговська Галина Володимирівна*** - д.с-г.н., проф. (Мінськ, Білорусь)
***Пономаренко Сергій Платонович*** - д.б.н. (Київ, Україна)
***Філіппова Тетяна Олегівна -*** д.б.н., проф. (Одеса, Україна)
***Хуршкайнен*** Тетяна Володимирівна - к.х.н. (Сиктивкар, Росія)
***Ninnemann Horst*** – д.н., Novihum Technologies GmbH (Дрезден, Німеччина)
***Sorge Reinhard*** - директор, Novihum Technologies GmbH (Дрезден, Німеччина)

## ОРГАНІЗАЦІЙНИЙ КОМІТЕТ КОНФЕРЕНЦІЇ

***Іваниця Володимир Олексійович*** **-** голова, д.б.н., проф. (Одеса, Україна)
***Новик Вольфганг*** - співголова, д.н., проф., директор Інституту прикладної біотехнології daRostim, (Ліхтенштайн, Німеччина)
**Вчений секретар:**
***Блайда Ірина Андріївна*** – к.т.н. (Одеса, Україна)
**Вчений секретар:**
***Клебанова Валентина Володимирівна*** - менеджер проектів та програм з трансферу технологій, освіти та науки (Ліхтенштайн, Німеччина)

***Члени оргкомітету***
***Афонін С.А.*** зав.лаб.; ***Барба І.М.*** н.с.; ***Боброва О.*** м.н.с.; ***Васильєва Н.Ю.*** к.б.н., с.н.с.; ***Васильєва Т.В.*** к.б.н., с.н.с.; ***Галкін М.Б.*** к.б.н., с.н.с.; ***Гудзенко Т.В.*** к.б.н., доц.; ***Гріневич В.С.*** к.ф-м.н.; ***Джамбек О.І.*** н.с.; ***Жумінська Г.І.*** к.б.н., н.с.; ***Іваниця Т.В.*** к.б.н., с.н.с.; ***Кейдалюк А.В.*** пров. фах.; ***Крилова К.Д.*** к.б.н., с.н.с.; ***Ліманська Н.В.*** к.б.н., доц.; ***Слюсаренко Л.І.*** н.с.; ***Ракітська С.І.*** директор Центру ОПСК; ***Русакова М.Ю.*** к.б.н., с.н.с.; ***Семенов К.І.*** к.ф-м.н., с.н.с.**;** ***Сергєєва Ж.Ю.*** к.б.н., с.н.с.; ***Степанова Т.Ю.*** к.б.н., с.н.с.; ***Хитрич В.Ф.*** н.с.; ***Худик І.В***. інж.-метролог; ***Чабан М.М.*** м.н.с.; ***Шулякова С.М.*** фах. (Одеса, Україна).

***Програма конференції***

## *07 вересня*

(Французький бульвар 24/26, актова зала)

**13.00 –** Прес-конференція для журналістів
**13.30 -** Відкриття конференції
**Привітання:**

- *ректор Одеського національного університету імені І.І. Мечникова доктор політичних наук, професор Коваль Ігор Миколайович (Одеса, Україна)*
- *директор Інституту прикладної біотехнології проф., доктор природничих наук, Новік Вольфганг (Ліхтенштайн, Німеччина)*
- *заступник директора Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАНУ, член-кор. НАН України, доктор біологічних наук, професор Іутинська Галина Олександрівна ( Київ, Україна)*

**14.00** – Пленарні доповіді.

**Головуючі:** проф. Іваниця Володимир Олексійович (Одеса, Україна),
проф. Новік Вольфганг (Ліхтенштайн, Німеччина)

1. ***Иутинская Галина Александровна, Белявская Л.А.***
*Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины, Киев,Украина*
***СТРАТЕГИЯ СОЗДАНИЯ ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНЫХ БИОПРЕПАРАТОВ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ НА ОСНОВЕ МЕТАБОЛИТОВ ПОЧВЕННЫХ СТРЕПТОМИЦЕТОВ***
2. ***Wolfgang Nowick***
*Институт прикладной биотехнологии daRostim, Лихтенштайн, Германия*
***РОСТ ПРОДУКТИВНОСТИ РАСТЕНИЕВОДСТВА И ПОТЕНЦИАЛ ЭКОНОМИИ АЗОТНОГО УДОБРЕНИЯ ПРИ ОБРАБОТКЕ ОПЫТНЫХ ПОЛЕЙ ГЕРМАНИИ КОМБИНАЦИЯМИ НА ОСНОВЕ ГУМИНОВЫХ И ФИТОГОРМОНАЛЬНЫХ СОСТАВЛЯЮЩИХ –РНС$_S$- В РАМКАХ ПРОГРАММЫ TANDEM*** [12/21]
3. ***Еріх Бістрікер***
*Експерт з питань кооперації в області наукових досліджень за завданням Федерального міністерства освіти та наукових досліджень Німеччини*
***АКТУАЛЬНІ МОЖЛИВОСТІ НІМЕЦЬКО-УКРАЇНСЬКОЇ СПІВПРАЦІ В ОБЛАСТІ БІОТЕХНОЛОГІЙ***

**Круглий стіл**
**15.30** – Кава-брейк
**16.00** – Екскурсійна програма по Одесі (факультативно)

## *08 вересня*

(Французький бульвар 24/26, актова зала)

**10.00 – Засідання секції 1. «Біотехнології в аграрному виробництві»**

**Головуючі:** член-кор. НАН України, проф. Іутинська Галина Олександрівна (Київ, Україна),
проф. Галкін Борис Миколайович (Одеса, Україна)

1. ***Пономаренко Сергей Платонович***
*ГП МНТЦ «Агробиотех», Киев, Украина*
***HIGH.TECH IN AGRICULTURE***
2. ***Центило Л. В., Журба М. А., Волкогон Виталий Васильевич***
*Институт сельскохозяйственной микробиологии и агропромышленного производства НААН, Чернигов, Украина*
***МИКРОБНЫЕ ПРЕПАРАТЫ В СИСТЕМАХ УДОБРЕНИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР***

3. ***Костеневич Александр Александрович, Бирюков Р. Н., Фальковская У. В., Тригубович А. М., Гончарова И. А***.
*Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*
***КОМПЛЕКСНАЯ ПЕРЕРАБОТКА ОТХОДОВ КОЗЬЕГО МОЛОКА, ОБРАЗУЮЩИХСЯ ПОСЛЕ ВЫДЕЛЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ЛАКТОФЕРРИНА, С ЦЕЛЬЮ ПОЛУЧЕНИЯ ФОСФОТИДИЛСЕРИНА И КАЗЕИНОВЫХ ГИДРОЛИЗАТОВ***

*4.* ***Сапунова Леонида Ивановна, Тамкович И. О., Кулиш С. А., Лобанок А. Г.***
*Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*
***ДЕЙСТВИЕ ОТДЕЛЬНЫХ ЭКЗОГИДРОЛАЗ BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS И ИХ КОМПЛЕКСА НА РАСТИТЕЛЬНОЕ СЫРЬЕ***

**11.30 –** Кава–брейк

**12.00 –** Продовження роботи секції 1

*5.* ***Колісник Наталія Михайлівна[1], Бахмат О. М.[2], Козіна Т. В.[2]***
*[1]Асоціація «Біоконверсія», Івано-Франківськ, Україна*
*[2]Подільський ДАТУ, Кам'янець-Подільський, Україна*
***ЗАСТОСУВАННЯ БІОПРЕПАРАТУ «ВЕРМИМАГ» ПРИ ВИРОЩУВАННІ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ КУЛЬТУР В ОРГАНІЧНОМУ ЗЕМЛЕРОБСТВІ***

*6.* ***Павличенко Анна Клаудіївна, Сирчін С.О., Юр'єва О.М., Наконечна Л.Т., Курченко І.М.***
*Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, Київ, Україна*
***БІОКОНВЕРСІЯ ПШЕНИЧНОЇ СОЛОМИ КОМПЛЕКСНИМ ФЕРМЕНТНИМ ПРЕПАРАТОМ З FENNELLIA SP. 2806***

*7.* ***Русакова Марія Юрьевна, Тягнирядно Л. Ю., Рущак О. В.***
*Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, Одеса, Україна*
***ХАРАКТЕРИСТИКА ВЗАЄМОДІЇ ДЕЯКИХ ПРЕДСТАВНИКІВ РОДУ PSEUDOMONAS З ІНШИМИ УЧАСНИКАМИ РИЗОСФЕРИ РОСЛИН***

*8.* ***Limanska Nataliia, Merlich A., Ivanytsia V.***
*Odessa National I.I. Mechnikov University, Odessa, Ukraine*
***EFFECT OF LACTOBACILLUS PLANTARUM ON PHYTOPATHOGENS AND PLANT GROWTH***

*9.* ***Штеніков Микола Дмитрович***
*Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, Одеса, Україна*
***АНТАГОНІСТИЧНА АКТИВНІСТЬ ЕНДОСПОРОУТВОРЮВАЛЬНИХ БАКТЕРІЙ НА СЕРЕДОВИЩАХ РІЗНОГО СКЛАДУ***

**13.00 –** Обід. Знакомство зі стендовими доповідями

**14.00 –** Продовження роботи секції 1

**Головуючі:** проф. Волкогон Віталій Васильович (Чернігів, Україна),
проф. Патика Микола Володимирович (Київ, Україна)

*10.* ***Нехведович Светлана Ивановна***
*РУП «Институт защиты растений», НАН РБ, Прилуки, Республика Беларусь*
***ЭФФЕКТИВНОСТЬ МИКРОБИОПРЕПАРАТОВ В КОНТРОЛЕ БОЛЕЗНЕЙ ЛЬНА МАСЛИЧНОГО В БЕЛАРУСИ***

*11.* ***Крилова Катерина Дмитрівна, Сергєєва Ж. Ю., Бабенко Д. О., Басюл О. В., Горшкова О. Г., Дубровіна О. А., Іваниця В. О.***
*Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, Одеса, Україна*
***ВПЛИВ БАКТЕРІЙ ІЗОЛЬОВАНИХ З РОСЛИН НА ЗБУДНИКІВ ХВОРОБ ОВОЧЕВИХ КУЛЬТУР***

*12.* ***Бойко Марія Вікторівна, Патика М. В., Патика Т. І.***
*Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ, Україна*
***БІОТЕХНОЛОГІЧНИЙ СПОСІБ ОТРИМАННЯ ЕНТОМОПАТОГЕННИХ ПРЕПАРАТІВ НА ОСНОВІ BACILLUS THURINGIENSIS***

*13.* ***Самойлов Андрій Михайлович, Теличко В. В., Жмурко В. В.***
*Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, Харків, Україна*
***ВПЛИВ ФЕНОЛЬНИХ КИСЛОТ ФЕНІЛПРОПАНОЇДНОГО РЯДУ, ЯКІ ВХОДЯТЬ ДО СКЛАДУ КОРЕНЕВИХ ЕКСУДАТІВ ПШЕНИЦІ, НА РІСТ ТА ХЕМОТАКСИС AZOSPIRILLUM BRASILENSE***

**15.30 –** Кава-брейк

**16.00** – Продовження роботи Секції 1

*14.* ***Лукашів Ольга Ярославівна, Вінярська Г. Б.***
*Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка, Тернопіль, Україна*
***ОТРИМАННЯ ТА БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ СЕЛЕНМЕТАЛЛІПІДНИХ ПРЕПАРАТІВ ІЗ CHLORELLA VULGARIS BIEJ***

*15.* ***Березюк Юлия Николаевна[1], Братухина А.А.[2], Бурцева С.А.[1], Шептицкий В.А. [2,3]***
*[1] Институт Микробиологии и Биотехнологии АНМ, Кишинев,*
*[2]Приднестровский Государственный Университет, Тирасполь,*
*[3] Институт Физиологии и Санокреатологии АНМ, Кишинев, Республика Молдова*
***ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТОВ ИЗ СТРЕПТОМИЦЕТОВ ПОЧВ МОЛДОВЫ НА ПРИВЕСЫ ТЕПЛОКРОВНЫХ ЖИВОТНЫХ В ОБЫЧНЫХ И СТРЕССОРНЫХ УСЛОВИЯХ***

*16.* ***Бабенко Дмитро Олександрович, Мрачковська Ю. О., Крилова К. Д.***
*Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, Одеса, Україна*
***ДІЯ ШТАММУ BACILLUS MEGATERIUM ONU 500 НА ВЕГЕТУЮЧІ РОСЛИНИ LYCOPERSICON ESCULENTUM***

*17.* ***Василенко О.В, Боднар Оксана Ігорівна***
*Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка, Тернопіль, Україна*
***РЕГУЛЯЦІЯ ВМІСТУ ПІГМЕНТІВ У CHLORELLA VULGARIS***

**17.00 –** Знайомство з стендовими доповідями

**18.00 –** Дружня зустріч

## *09 вересня*

(Французький бульвар 24/26, актова зала)

**10.00 – Засідання секції 2. «Природні та штучні сполуки як регулятори росту та захисту рослин»**

**Головуючі:** проф. Новік Вольфганг (Ліхтенштайн, Німеччина),
д.б.н., проф. Пономаренко Сергій Платонович (Киев, Україна)

*1.* ***Палладіна Тетяна Олександрівна, Коваленко Н. О., Білик Ж. І.***
*Інститут ботаніки ім. М.Г.Холодного НАН України, Київ, Україна*
***ВПЛИВ БІОАКТИВНИХ ПРЕПАРАТІВ МЕТІУР ТА ІВІН НА ФУНКЦІОНУВАННЯ Н+-ПОМП ВАКУОЛЯРНОЇ МЕМБРАНИ КЛІТИН КОРЕНІВ ПРОРОСТКІВ КУКУРУДЗИ ЗА УМОВ ЗАСОЛЕННЯ***

*2.* ***Рудницька Марія Володимирівна, Палладіна Т. О.***
*Інститут ботаніки ім. М.Г.Холодного НАН України, Київ, Україна*
***ВПЛИВ БІОАКТИВНИХ ПРЕПАРАТІВ МЕТІУР ТА ІВІН НА АКТИВНІСТЬ Ca2+-АТФази У ВАКУОЛЯРНІЙ МЕМБРАНІ КЛІТИН КОРЕНІВ КУКУРУДЗИ ЗА УМОВ ЗАСОЛЕННЯ***

*3.* ***Molodchenkova Olha Olehivna, Adamovskaya V.G., Lykhota O. B., Kartuzova T.V.***
*Plant Breeding&Genetics Institute-National Center of Seed and Cultivar Investigation, Odessa, Ukraine*
***ROLE OF BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS IN THE PLANT RESISTANCE AT THE FUNGAL INFECTIONS AND ABIOTIC FACTORS***

*4.* ***Бунчак Олександр Миронович***
*Подільський державний аграрно-технічний університет, Кам'янець-Подільський, Україна*
***ВПЛИВ ОРГАНІЧНИХ ДОБРИВ ТА РЕГУЛЯТОРА РОСТУ ІЗ ЗБАЛАНСОВАНИМ УМІСТОМ $CR^{+3}$ НА УРОЖАЙНІСТЬ І ЯКІСТЬ ЗЕРНА ВІВСА***

**11.30 –** Кава-брейк

**12.00 –** Продовження засідання секції 2

*5.* ***Гнатюк Ірина Сергіївна[1], Горбатюк І.Р.[2], Банникова М.О.[2]***
*[1]НТУУ «КПІ», Київ, Україна*
*[2]ІКБГІ НАН України, Київ, Україна*
***ВПЛИВ АНТИБІОТИКУ ЦЕФТРИАКСОНУ НА РЕГЕНЕРАЦІЮ IN VITRO ПШЕНИЦІ МЯКОЇ TRITICUM AESTIVUM L. СОРТІВ ПОДОЛЯНКА ТА ЗИМОЯРКА***

*6.* ***Плотникова Татьяна Викторовна[1], Саломатин В.А.[1], Хуршкайнен Т.В.[2], Кучин А.В.[2]***
*[1]Всероссийский НИИ табака, махорки и табачных изделий, Краснодар, Россия*
*[2]Институт химии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия*
***ФОРМИРОВАНИЕ ПРОДУКТИВНОСТИ ТАБАКА ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ПРИРОДНОГО СТИМУЛЯТОРА РОСТА ВЭРВА***

*7.* ***Зінченко Володимир Олександрович[1], Зінченко О. В.[1], Вовк О. О.[2], Новік В.[3]***
*[1]Житомирський національний агроекологічний університет,Україна*
*[2]ТзОВ «ЕКО – ГУМАТ, Рівненська обл. Городок, Україна*
*[3]daRostim – Приватний інститут прикладної біотехнології, Ліхтенштейн, Германія*
***ЕФЕКТИВНІСТЬ РІДКИХ ОРГАНІЧНИХ ДОБРИВ ЕКО-ГУМАТ В РОСЛИННИЦТВІ***

*8.* ***Pykalo Serhii Volodymyrovych[1], Bavol A. V.[2], Dubrovna O.V.[2]***
*[1]The V.M. Remeslo Myronivka Institute of Wheat, NAAS of Ukraine, Kyiv region, Ukraine*
*[2]Institute of Plant Physiology and Genetics, NASU, Kyiv, Ukraine*
***CYTOGENETIC EFFECT OF SODIUM CHLORIDE ON CALLUS CULTURES OF WINTER TRITICALE***

**13.00 –** Обід. Знакомство зі стендовими доповідями

**14.00 – Засідання секції 3. «Біотехнології для захисту природного середовища та знешкодження промислових відходів»**

**Головуючі:** проф. Новіков Володимир Павлович (Львів, Україна),
к.т.н. Блайда Ірина Андріївна (Одеса, Україна)

*1.* ***Глушень Елена Михайловна, Нагорный Р. К., Степанян Р. А.***
Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь
***БИООЧИСТКА ПРОМЫШЛЕННОГО ВЕНТВОЗДУХА ОТ ВРЕДНЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ***

2. ***Горшкова Олена Георгіївна, Самофалов М. О***.
*Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, Одеса, Україна*
***РОЗРОБКА БІОТЕХНОЛОГІЇ ОЧИЩЕННЯ БЕРЕГОВОЇ ЗОНИ О. ЗМІЇНИЙ ВІД ВУГЛЕВОДНІВ НАФТИ***

*3.* ***Гудзенко Тетяна Василівна, Горшкова О.Г., Волювач О.В., Бєляєва Т.О., Конуп І.П., Іваниця В.О.***
*Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, Одеса, Україна*
***КОМПЛЕКСНИЙ БІОПРЕПАРАТ ДЛЯ ОЧИСТКИ ПРИБЕРЕЖНОГО МОРСЬКОГО СЕРЕДОВИЩА І ҐРУНТУ ВІД ШИРОКОГО СПЕКТРУ ЗАБРУДНЮВАЧІВ***

*4.* ***Мурыгина Валентина Павловна[1], Гайдамака С.Н.[1], Гладченко М.А.[1], Зубайдуллин А А.[2]***
*[1]Химический факультет Московского Государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва*
*[2]ЗАО Сибирский научно-исследовательский и проектный институт* рационального природопользования ("СибНИПИРП"), г. Нижневартовск
***ГЕОКОНТЕЙНЕРНАЯ ТЕХНОЛОГИЯ ДЛЯ РЕМЕДИАЦИИ ЗАГРЯЗНЕННЫХ НЕФТЬЮ ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ, ЗАПАДНАЯ СИБИРЬ, РОССИЯ***

**15.30** – Кава-брейк

**16.00** – Продовження засідання секції 3

*5.* ***Блайда И. А., Васильева Тетяна Володимирівна, Хитрич В. Ф., Барба И. Н., Нещерет Л. С.***
*Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, Одеса, Україна*
***ЗАВИСИМОСТЬ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВЫЩЕЛАЧИВАНИЯ МЕТАЛЛОВ ОТ ИСТОЧНИКА ЭНЕРГИИ***

*6.* ***Brodyazhenko Tatyana, Vasilyeva T., Limanska N.***
*Odessa I.I. Mechnikov National University, Odessa, Ukraine*
***STUDY OF PHENOTYPIC PROPERTIES OF CHEMOLITHOTROPHIC ACIDOPHILIC BACTERIA ISOLATED FROM TECHNOGENIC WASTES***

*7.* ***Блайда Ирина Андреевна[1], Васильева Т. В.[1], Семенов К. И.[1], Баранов В. И.[2]***
*[1]Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова, Одесса, Украина*
*[2]Львовский национальный университет имени И. Франко, Львов, Украина*
***ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ АБОРИГЕННОЙ МИКРОБИОТЫ ДЛЯ УТИЛИЗАЦИИ ТЕХНОГЕННЫХ ОТХОДОВ УГОЛЬНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ И ЭНЕРГЕТИКИ***

***18.00*** *– Екскурсія до Національного наукового центру "Інститут виноградарства і виноробства імені В.Є. Таїрова" НААН України (факультативно)*

## *10 вересня*

(Французький бульвар 24/26, актовий зал)

**10.00 – Засідання секції 4. «Мікроорганізми та їх роль в природних екосистемах»**
**Головуючі**: проф. Грубінко Василь Васильович (Тернопіль, Україна),
проф. Філіпова Тетяна Олегівна (Одеса, Україна)

*1.* ***Грубінко Василь Васильович, Луців А. І.***
*Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка, Тернопіль, Україна*
***РЕГУЛЯЦІЯ БІОСИНТЕЗУ ЛІПІДІВ У CHLORELLA VULGARIS BEIJ. ІОНАМИ МЕТАЛІВ І ДИЗПАЛИВОМ***

*2.* ***Коломієць Юлія Василівна[1], Григорюк І. П.[1], Буценко Л. М.[2], Лісовий О. А.[1]***
*[1]Національний університет біоресурсів та природокористування України, м. Київ, Україна*
*[2]Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, м. Київ, Україна*
***БАКТЕРІАЛЬНІ ХВОРОБИ РОСЛИН ТОМАТІВ В УМОВАХ ВІДКРИТОГО І ЗАКРИТОГО ҐРУНТУ УКРАЇНИ***

*3.* ***Чекалов Василь Анатолійович, Волкова Н. Е.***
*Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннєзнавства та сортовивчення, м. Одеса, Україна*
***МОЛЕКУЛЯРНА ІДЕНТИФІКАЦІЯ ЗБУДНИКА ФУЗАРІОЗНОГО В'ЯНЕННЯ НУТУ ЗВИЧАЙНОГО (CICER ARIETINUM L.)***

*4.* ***Прокопчук Олена Ігорівна***
*Тернопільський національний педагогічний університет ім. В. Гнатюка, Тернопіль, Україна*
***АКУМУЛЯЦІЯ ФОСФОРУ NASTURTIUM OFFICINALE R. BR. У МОДЕЛЬНОМУ ЕКСПЕРИМЕНТІ***

**Закриття конференції**

## Стендові доповіді

## Секція 1
## «Біотехнології в аграрному виробництві»

*1.1.* ***Мороз И. В., Лобанок А. Г.***
*Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*
***ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА КОМПЛЕКСНОГО ЦЕЛЛЮЛОЛИТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА***

*1.2.* ***Шелеп Т.В.[1], Бабицький А.І.[1], Даниленко С.Г.[2], Безсмертна О.О.[3], Бойко О.А.[1]***
*[1]Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ, Україна*
*[2]Інститут продовольчих ресурсів НААН вул. Є.Сверстюка, Київ, Україна*
*[3]Київський національний університет імені Тараса Шевченка , Київ, Україна*
***ОСОБЛИВОСТІ МІКРОБІОЛОГІЧНОГО СКЛАДУ АВТЕНТИЧНОЇ ЗАКАРПАТСЬКОЇ БРИНЗИ***

*1.3.* ***Великсар С. Г. , Леманова Н. Б.***
*Институт генетики, физиологии и защиты растений АНМ, Кишинэу, Молдова*
***ВЛИЯНИЕ КОМБИНАЦИИ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ И БАКТЕРИАЛЬНЫХ ШТАММОВ НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ЛИСТЬЕВ И РОСТ САЖЕНЦЕВ ВИНОГРАДА***

*1.4.* ***Горбатюк І. Р.[1], Гнатюк І. С.[2], Трояновська Л. В.[2], Жалій Н. А.[3], Банникова М. О.[4], Моргун Б. В.[4]***
*[1]ІКБГІ НАН України, м. Київ, Україна*
*[2]НТУУ «КПІ», м. Київ, Україна*
*[3]НУХТ, м.Київ, Україна*
*[4]ІКБГІ НАН України, м. Київ, Україна*
***ВИЗНАЧЕННЯ НАЯВНОСТІ ТА ЕКСПРЕСІЇ ТРАНСГЕНІВ ПІСЛЯ AGROBACTERIUM-ОПОСЕРЕДКОВАНОЇ ТРАНСФОРМАЦІЇ ПШЕНИЦІ TRITICUM AESTIVUM L. СОРТІВ ЗИМОЯРКА ТА ПОДОЛЯНКА***

*1.5.* ***Калацкая Ж. Н.[1], Ламан Н. А.[1], Минкова В. В.[1], Молчан О.В.[2]***
*[1]Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси, Минск, Беларусь*
*[2]Институт микробиологии НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь*
***ВЛИЯНИЕ ТРЕПЕЛА В СОСТАВЕ КОРНЕОБИТАЕМОЙ СРЕДЫ НА РОСТСТИМУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ИНТРОДУЦИРОВАННОГО БАКТЕРИАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА***

*1.6.* ***Melnykova N.[1], Ferus P.[2], Bošiaková D.[2, 3], Kots S.[1]***
*[1]Institute of Plant Physiology and Genetics of NASU, Kyiv, Ukraine*
*[2]Institute of Forest Ecology SAS, Vieskanad Ťitavou, Slovakia*
*[3]University of Constantine the Philosopher, Nitra, Slovakia*
***MICROBIAL INOCULATION AS A WAY TO AFFECT BLACK LOCUST SEEDLING GROWTH AND DEVELOPMENT***

*1.7.* ***Скороход І. О., Кириченко А. М., Рой А. О.***
*Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, Київ, Україна*
***АНТИВІРУСНА ДІЯ КУЛЬТУРАЛЬНОЇ РІДИНИ BACILLUSSUBTILIS IMB B-7023 ЩОДО ВІРУСУ ТЮТЮНОВОЇ МОЗАЇКИ НА ЛИСТЯХ ДУРМАНУ***

*1.8.* ***Іваніца В. Ю.***
*Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, Одеса, Україна*
***ДОСЛІДЖЕННЯ ПОЛІФУНКЦІОНАЛЬНИХ КОРИСНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ LACTOBACILLUS PLANTARUM ONU 12***

## Секція 2
## «Природні та штучні сполуки як регулятори росту та захисту рослин»

*2.1.* ***Толкачова Н.В.[1], Комаровська-Порохнявець О.З.[2], Марінцова Н.Г.[2], Журахівська Л.Р.[2], Стадницька Н.Є.[2], Баранович Д.Б.[2], Новіков В.П.[2]***
*[1]Нікітський ботанічний сад – Національний науковий центр, Ялта, Крим*
*[2]Національний університет «Львівська політехніка», Львів, Україна*
***РІСТРЕГУЛЮЮЧА АКТИВНІСТЬ СТЕРОЇДНИХ ГЛІКОЗИДІВ ЦИБУЛЬ***

*2.2.* ***Хуршкайнен Т.В.[1], Шершунова О.Н.[2], Лобанов А.Ю.[2]***
*[1]Институт химии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия*
*[2]НИИСХ Республики Коми Россельхозакадемии, Сыктывкар, Россия*
***ВЛИЯНИЕ БИОПРЕПАРАТА ВЭРВА НА УРОЖАЙНОСТЬ СЕНОКОСНЫХ ТРАВ***

*2.3.* ***Мельникова Е.В., Корытько Л.А.***
*ГНУ «Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь*
***ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ ФУНКЦИЯ АМИНОКИСЛОТ В ЗАЩИТЕ РЖИ (SECALECEREALEL.) ОТ РЖАВЧИННОЙ ИНФЕКЦИИ (PUCCINIA DISPERSA ERIKS ET. HENN.)***

*2.4.* ***Зінченко О.[1], Зінченко В.[1], Пономаренко С.[2]***
*[1]Житомирський національний агроекологічний університет, м. Житомир, Україна.*
*[2]ДП МНТЦ «Агробіотех» НАН і МОН України, Київ, Україна*
***ЕКОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ВИРОЩУВАННЯ МІСКАНТУСА ГІГАНТСЬКОГО, КАРТОПЛІ ТА ВІВСА***

*2.5.* ***Капрій М.М.[1], Грицаєнко З.М.[1], Пономаренко С.П.[2]***
*[1]Уманський національний університет садівництва, м. Умань, Україна*
*[2]ДП МНТЦ «Агробіотех» НАН і МОН України, Київ, Україна*
***ПЕРСПЕКТИВИ КОМПОЗИЦІЙ РАМНОЛІПІДНИХ АНТАГОНІСТИЧНА АКТИВНІСТЬ З ЕТИЛТІОСУЛЬФОНАТОМ ДЛЯ ЗАСОБІВ ЗАХИСТУ РОСЛИН***

*2.6.* ***Пономаренко** С.П.[1], Мельников О.В.[1]***
*[1]ДП «Міжвідомчийнауково-технологічний центр «Агробіотех» НАН та МОН України, Київ*
***НАКОПИЧЕННЯ $C0_2$ ЗА ВИКОРИСТАННЯ БІОРЕГУЛЯТОРІВ РОСТУ РОСЛИН***

*2.7.* ***Ponomarenko S.P.[1], Petrenko A.N.[1], Pidberezko I.N.[2]***
*[1] SE ISTC Agrobiotech, NAS and MES of Ukraine, Kyiv, Ukraine*
*[2] Institute for Potato Research, NAAS, vil. Nemishayevo, Kyiv region, Ukraine*
***APPLICATION OF THE BIOSTIMULANTS STIMPO AND REGOPLANT ON POTATO***

*2.8.* ***Карпенко І.В.[1], Лубенець В.І.[2], Карпенко О.Я.[2], Мідяна Г.Г.[1], Новіков В.П.[2]***
*[1]Відділення фізико-хімії горючих копалин ІнФОВ ім. Л. М. Литвиненка НАН України, Львів*
*[2]Національний університет «Львівська політехніка», Львів, Україна*
***ПЕРСПЕКТИВИ КОМПОЗИЦІЙ РАМНОЛІПІДНИХ БІОПАР З ЕТИЛТІОСУЛЬФОНАТОМ ДЛЯ ЗАСОБІВ ЗАХИСТУ РОСЛИН***

*2.9.* ***Крытынская Е.Н., Соловей И.В.***
*Белорусский государственный университет*
***ЭЛЕКТРИЧЕСКАЯ РЕАКЦИЯ ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ КЛЕТОК NITELLA FLEXILIS НА ДЕЙСТВИЕ ГЛИЦИНА***

*2.10.* ***Леденьов С.Ю.[1], Семено О.В.[2]***
*Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка НАН України, Київ, Україна*
***ЗАСТОСУВАННЯ ЕКСТРАКТІВ ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИН-ІНСЕКТИЦИДІВ ПРОТИ ШКІДНИКІВ В УМОВАХ ЗАКРИТОГОТА ВІДКРИТОГО ГРУНТУ***

*2.11.* ***Монька Н.Я.[1], Наконечна А.В.[1], Хоміцька Г.М.[1], Василюк С.В.[1], Карпенко І.В.[2], Кушнір Н.В.[1], Новіков В.П.[1], Лубенець В.І.[1].***
*[1]Національнийуніверситет «Львівська політехніка», Львів, Україна*
*[2]Відділенняфізико-хімії горючих копалин Інституту фізико-органічної хімії і вуглехімії ім. Л.М. Литвиненка НАН України, Львів, Україна*
***АНТИБАКТЕРІАЛЬНА ДІЯ АЛКІЛОВИХ І АЛКІЛЗАМІЩЕНИХ ЕСТЕРІВ БЕНЗЕНТІОСУЛЬФОКИСЛОТ***

*2.12.* ***Тютюнникова Е.М., Плотникова Т.В.***
*ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт табака, махорки и табачных изделий», Краснодар, Россия*
***ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ РЕГУЛЯТОРА РОСТА ЭМИСТИМ С ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ ТАБАКА***

*2.13.* ***Яремкевич Е.С.[1], Семенюк И.В.[2], Фигурка О.М.[1], Карпенко Е.В.[2], Новиков В.П.[1]***
*[1]Национальный университет «Львовская политехника», Львів, Украина*
*[2]Отделение физико-химии горючих ископаемых ИнФОВ им. Л. Н. Литвиненко НАНУ, Украина*
***АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ IN VITRO***

*2.14.* ***Кричковська А.М., Болібрух Л.Д., Журахівська Л.Р., Марінцова Н.Г., Кушнір Н.В, Губицька І.І., Хоменко О.І, Новіков В.П.***
*Національний університет «Львівська політехніка», кафедра Технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології, МОН України, Львів, Україна*
***ПРОБЛЕМИ БІОЕТИКИ ТА БІОБЕЗПЕКИ: ЗАСТОСУВАННЯ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ТЕХНОЛОГІЙ У ФАРМАЦІЇ***

*2.15.* ***Жилкибаев О.Т.[1], Мухамадиев С.Н.[2], Шоинбекова С.А.[1], Бахташ К.Н.[1], Бисенова Н.М.[1], Сагындыкова С.З.[1]***
[1]Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Алматы, Казахстан
[2]Казахский НИИ защиты и карантина растений, Алматы, Казахстан
**ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ СТИМУЛЯТОРОВ РОСТА ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ КАЧЕСТВА СЕЯНЦЕВ ТЯНЬ ШАНЬСКОЙ ЕЛИ *(PICEA SCHRENKIANA)***

## Секція 3
## «Біотехнології для захисту природного середовища та знешкодження промислових відходів»

*3.1.* ***Конечна Р.Т.[1], Петріна Р.О.[1], Федорова О.В.[1], Курка М.С.[1], Миляніч А.О.[1], Ясіцька-Місяк І.[2], Вечорек П.[2], Новіков В.П.[1]***
*[1]Національний університет «Львівська політехніка», Львів, Україна*
*[2]Опольський університет, Ополе, Польща*
***АЛЬТЕРНАТИВНИЙ БІОТЕХНОЛОГІЧНИЙ МЕТОД ОДЕРЖАННЯ БІОМАСИ GENTIANA LUTEA L***

*3.2.* ***Костеневич А.А., Павлюк А.Н., Сапунова Л.И.***
*Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*
***МОЛОЧНАЯ СЫВОРОТКА КАК ОСНОВА ПОЛУЧЕНИЯ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ в-ГАЛАКТОЗИДАЗЫ БАКТЕРИАЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ***

*3.3.* ***Grodzinsky D., Shylina Yu., Pchelovska S., Litvinov S., Sokolova D., Zhuk V., Tonkal L., Salivon A., Nesterenko O.***
*The Institute of Cell Biology and Genetic Engineering of the NASU, Kyiv, Ukraine*
***THE EFFECT OF PRE-SOWING RADIATION EXPOSURE ON MEDICINAL PLANT PRODUCTIVITY***

*3.4.* ***Швед О.М., Петріна Р.О., Яремкевич О.С., Сидорова Т. Б., Швед О.В., Новіков В П.***
*[1]Національний університет «Львівська політехніка», кафедра Технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології, МОН України, Львів, Україна*
***ПЕРСПЕКТИВА ЗАСТОСУВАННЯ БІОІНДИКАТОРНИХ КОМПОНЕНТІВ БІОІНЖЕНЕРНИХ СТАВКІВ***

*3.5.* ***Васильєва Т. В., Блайда І. А., Слюсаренко Л. І., Шулякова С. М.***
*Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, Одеса, Україна*
***ВИКОРИСТАННЯ РІЗНИХ ГРУП БАКТЕРІЙ У БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ПРОЦЕСАХ ВИЛУГОВУВАННЯ МЕТАЛІВ***

*3.6.* ***Джамбек О. А., Джамбек О. І., Блайда І. А., Васильєва Т. В., Слюсаренко Л. І.***
*Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, Одеса, Україна*
***ЕЛЕКТРОХІМІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОЦЕСУ БІОВИЛУГОВУВАННЯ ВІДВАЛУ ВУГЛЕЗБАГАЧЕННЯ У СКЛАДІ ПОРИСТОГО ЕЛЕКТРОДА***

*3.7.* ***Шулякова С. М., Васильєва Т. В., Блайда І. А***
*Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, Одеса, Україна*
***ВПЛИВ ТЕХНОГЕННИХ ВІДХОДІВ НА ПРОРОСТАННЯ НАСІННЯ***

*3.8.* ***Васильева Н. Ю., Блайда И. А., Нещерет Л. С.***
*Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова, г. Одесса, Украина*
***ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНЫХ ПАРАМЕТРОВ ВЫЩЕЛАЧИВАНИЯ МЕТАЛЛОВ ИЗ ПОРОДНЫХ ОТВАЛОВ ЛЬВОВСКО-ВОЛЫНСКОГО УГОЛЬНОГО БАССЕЙНА***

*3.9.* ***Гайдамака С.Н., Мурыгина В.П., Гладченко М.А.***
*Химический факультет Московского Государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва*
***РАЗМЯГЧЕНИЕ БИТУМИНОЗНОЙ КОРКИ В ПРОЦЕССЕ БИОРЕМЕДИАЦИИ ВЕРХОВОГО БОЛОТА С ЗАСТАРЕЛЫМ НЕФТЯНЫМ ЗАГРЯЗНЕНИЕМ. ЛАБОРАТОРНЫЕ ИСПЫТАНИЯ***

*3.10.* ***Глушень Е.М., Петрова Г.М., Шакун Т.П.***
*Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь*
***БИОСОРБЦИОННЫЙ ПРЕПАРАТ РОДОБЕЛ-ТН ДЛЯ РЕКУЛЬТИВАЦИИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ТЕРРИТОРИЙ БЕЛАРУСИ***

*3.11.* ***Горшкова О. Г., Ільченко О. М.***
*Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, Одеса, Україна*
***ЗАСТОСУВАННЯ БАКТЕРІЙ РОДУ PSEUDOMONAS В БІОТЕХНОЛОГІЯХ ОЧИСТКИ ВОДИ ВІД ПОЛЛЮТАНТІВ***

## Секція 4
## «Мікроорганізми та їх роль в природних екосистемах»

*4.1.* ***Яремкевич О. С., Заярнюк Н. Л., Червецова В. Г., Швед О. В., Клап Я. А., Новіков В. П.***
*Національний університет «Львівська політехніка», Львів, Україна*
***ВПЛИВ ФІЗИЧНИХ ПОЛІВ НА КУЛЬТУРУ SACCHAROMYCES CEREVISIAE ЯК МЕТОД ПОКРАЩЕННЯ ЗБРОДЖЕННЯ***

*4.2.* ***Boyko A.A.[1], Zhuminska G.I.[2], Lukina A.V.[2], Zakernichnaya I.V.[2], Ivanytsia V.A.[2], Tovkach F.I.[1]***
*[1]Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, Kyiv, Ukraine*
*[2]Odesa I.I. Mechnikov National University, Odesa, Ukraine*
***МОЖЛИВІСТЬ БІОКОНТРОЛЮ БАКТЕРІЙ АСОЦІЙОВАНИХ З РОСЛИНАМИ ЗА ДОПОМОГОЮ СПЕЦИФІЧНИХ БАКТЕРІОФАГІВ***

## *Установи та підприємства - учасники конференції*

1. Асоціація «Біоконверсія», Івано-Франківськ, Україна
2. Відділення фізико-хімії горючих копалин ІнФОВ ім. Л.М. Литвиненка НАН України, Львів, Україна
3. Дніпропетровський державний аграрно-економічний університет, Дніпро, Україна
4. Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара, Дніпро, Україна
5. ДП «Міжвідомчий науково-технологічний центр «Агробіотех» НАН та МОН України, Київ, Україна
6. Житомирський державний університет імені Івана Франка, Житомир, Україна
7. Житомирський національний агроекологічний університет, Житомир, Україна
8. Институт сельскохозяйственной микробиологии и агропромышленного производства НААН, Чернигов, Украина
9. Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, Київ, Україна
10. Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України, Київ, Україна
11. Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, Київ, Україна
12. Інститут продовольчих ресурсів НААН, Київ, Україна
13. Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, Київ, Україна
14. Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна
15. Львівський національний аграрний університет, Львів, Україна
16. Львівський національний університет імені Івана Франка, Львів, Україна
17. Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка НАН України, Київ, Україна
18. Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут», Київ, Україна
19. Національний університет «Львівська політехніка», Львів, Україна
20. Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ, Україна
21. Національний університет харчових технологій (НУХТ), Київ, Україна
22. Нікітський ботанічний сад - Національний науковий центр, Ялта, Крим
23. Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, Одеса, Україна
24. Подільський державний аграрно-технічний університет, Кам'янець-Подільський, Україна
25. Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннєзнавства та сортовивчення, Одеса, Україна
26. Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка, Тернопіль,, Україна
27. ТзОВ «ЕКО – ГУМАТ, Рівненська обл. с. Городок, Україна
28. Уманський національний університет садівництва, Умань, Україна
29. Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, Харків, Україна
30. Institute for Potato Research, NAAS, Kiev region, Ukraine

31. Institute of Plant Physiology and Genetics of NASU, Kyiv, Ukraine
32. The V.M. Remeslo Myronivka Institute of Wheat, NAAS of Ukraine, Kyiv region, Ukraine
33. Белорусский государственный университет, г. Минск, Республика Беларусь.
34. ГНУ «Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси», г. Минск, Республика Беларусь
35. Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь
36. Приднестровский Государственный Университет им. Т.Г. Шевченко, Тирасполь, Молдавия
37. РУП «Институт защиты растений», НАН РБ, Прилуки, Республика Беларусь
38. Московский Государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Росси
39. ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт табака, махорки и табачных изделий», г. Краснодар, Россия
40. ЗАО Сибирский научно-исследовательский и проектный институт рационального природопользования ("СибНИПИРП"), г Нижневартовск
41. Институт химии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия
42. НИИСХ Республики Коми Россельхозакадемии, г. Сыктывкар, Россия
43. Институт генетики, физиологии и защиты растений АНМ, Кишинэу, Республика Молдова
44. Институт Микробиологии и Биотехнологии АНМ, г. Кишинев, Республика Молдова
45. Институт Физиологии и Санокреатологии АНМ, г. Кишинев, Республика Молдова
46. Люблінський університет, Теологічний інститут ім. Й. Більчевського , Польща
47. Опольський університет, Ополе, Польща
48. Institute of Forest Ecology SAS, Vieska nad Žitavou, Slovakia
49. University of Constantine the Philosopher, Nitra, Slovakia
50. daRostim - Private Institute of Applied Biotechnology, Lichtenstein, Germany

## *Авторський вказівник*

***Список тез, статей, доповідей*** ***Стор.***

*Theses, articles, reports*

**Бабенко Д.О., Мрачковська Ю.О., Крилова К.Д.**
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, Одеса, Украина

## ДІЯ БАКТЕРІЙ ШТАММУ *BACILLUS MEGATERIUM* ONU 500 НА ВЕГЕТУЮЧІ РОСЛИНИ *LYCOPERSICON ESCULENTUM*

*Bacteria of the genus Bacillus are widely used to create biopreparation. There is due the ability of these bacteria to form spores and the presence of a broad metabolic potential. The aim of this work was to determine the effect biopreparation of the complex action to growing plants. The obtained data are promising, because significant stimulation of growth was observed in the inoculation of seeds and roots biopreparation based on Bacillus megatherium ONU 500.*

Захист рослин від фітопатогенів стає все більш гострою проблемою сучасного землеробства і сільськогосподарської мікробіології. Оскільки традиційний хімічний захист у багатьох випадках виявляється неефективним і небезпечним, в останні роки широке поширення отримав мікробіологічний метод захисту рослин. Даний метод є одним з найбільш перспективних у зв'язку з його екологічністю, специфічністю і ефективністю[1]. Бактерії роду *Bacillus* широко використовуються для створення біопрепаратів. Це обумовлено здатністю бацил до формування ендоспор, які мають високий ступінь стійкості до змін умов зовнішнього середовища, та широким метаболічним потенціалом цих бактерій[4]. Окрім здатності продукувати різні біологічно активні сполуки з антимікробною, фунгіцидною, та ентомоцидною дією, для них показано синтез регуляторів і стимуляторів росту рослин [2].

Метою дослідження було визначення дії комплексного препарату, створеного на основі штаму *B. megatherium* ОНУ 500 на вегетуючі рослини *L. esculentum*. В роботі було використано штам *B. megatherium* ОНУ 500, і відібране насіння *L. esculentum*. Насіння для кожного з дослідних варіантів, перед висаджуванням у ґрунт, замочували у 2% добовій суспензії бактерій штаму *B. megaterium* ОНУ 500, або у стерильній водогінній воді, на протязі чотирьох годин. На наступному етапі, на отриманих паростках рослин *L. esculentum* дію комплексного препарату перевіряли після появи третьої пари листків. Рослини обробляли 2% добовою суспензією бактерій штаму *B. megaterium* ОНУ 500, методом підкореневого підживлення. У якості контролю використовували замочене насіння у стерильній водогінній воді та поляті рослини,. Кожен дослідний варіант виконували у трикратному повторенні, у кожному повторенні висаджували по 10 рослин. На 60 добу враховували результати, зважуючи кожен дослідний варіант [3].

Було встановлено, що збільшення маси відносно контролю спостерігалось у випадку всіх дослідних варіантів. Інокуляція насіння і підкореневе підживлення у суспензії штаму *B. megatherium* ОНУ 500, дала найбільше збільшення загальної маси рослин на 280%, у порівнянні з контрольним варіантом. Вага контрольного варіанту складала 11,82 гр. У дослідних зразках насіння, яке замочували у воді, а корені оброблені методом підкореневого підживлення у суспензії штаму *B. megatherium* ОНУ 500, зростання маси рослин відбувалось на 163%, якщо замочували насіння у суспензії штаму *B. megatherium* ОНУ 500, а корені поливали стерильною водогінною водою, збільшення маси спостерігалось на 170%. Таким чином, вивчена дія штаму *B. megatherium* ОНУ 500 на вегетуючі рослини. Максимальні показники на 280% збільшення маси були продемонстровані при обробленні насіння і коренів штамом *B. megatherium* ОНУ 500, що вказує на його значну ріст стимулюючу дію.

Отримані результати є перспективними, так як наявність ріст стимулюючої активності веде, окрім іншого, до зміцнення імунітету рослини, що дозволить використовувати цей штам у якості біопрепарату з комплексною дією у тих випадках, коли у ґрунті присутні фітопатогенні бактерії.

**Література**

1. Баубекова Д.Г. Разработка полифункционального биопрепарата на основе микроорганизма рода Bacillus для защиты сельскохозяйственной продукции // Естественные и математические науки в современном мире. 2014. №18 С.91-97.
2. Драговоз І.В., Леонова Н.О., Лапа С.В., Піскова О.В., Крючкова Л.О., Авдєєва Л.В. Синтез позаклітинних фітогормонів штамами Bacillus, виділеними з різних природних джерел // Мікробіол. журн. – 2013. – Т. 75, № 3. – С. 65–71.
3. Сергєєва Ж.Ю., Крилова К.Д., Ліманська Н.В., Васильєва Н.Ю., Товкач Ф.І., ІваницяВ.О. Вплив LactobacillusplantarumONU 87 та автолізату бактерій Erwinia carotovora ZM1 на інфекційність збудників м'якої гнилі // Мікробіологія і біотехнологія. – 2012. – №4(20), С. 18-28.
4. Шустер А. Г., Максимова, Н. П. Состав и активность хитинолитического комплекса бактерий рода Bacillus // Вестник Белорусского государственного университета. Сер. 2, Химия. Биология. География. – 2008. - №2. – С. 69-73.

**Баня А.Р.[1], Карпенко О.Я.[2], Баранов В.І.[3], Швець В.В.[1], Карпенко О.В.[1], Новіков В.П.[2]**
[1]Відділення фізико-хімії горючих копалин ІнФОВ ім. Л.М. Литвиненка НАН України, Львів
[2]Національний университет «Львівська політехніка», Львів, Україна
[3]Львівський національний університет імені Івана Франка, Львів, Україна

## БІОГЕННІ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНІ РЕЧОВИНИ У КОМПЛЕКСНІЙ ФІТОРЕМЕДІАЦІЇ НАФТОЗАБРУДНЕНИХ ҐРУНТІВ

*The efficiency of biosurfactants, microorganism-destructors and oxidants in the process complex phytoremediation of petroleum contaminated soils has been shown.*

Натепер серед пріоритетних та екологічно прийнятних методів очищення забрудненого довкілля, зокрема нафтопродуктами, заслуговують на увагу біологічні з використанням рослин та мікроорганізмів. Однак біологічне очищення часто буває малоефективним і тривалим, що зумовлено низькою біодоступністю забруднень через їх сорбцію на ґрунті, гідрофобність та токсичність [1]. У зв'язку з цим актуальним завданням є розробка комплексних підходів до відновлення ґрунтів від нафтових забруднень із застосуванням рослин та ефективних стимуляторів мікробної природи (фіторемедіація). Найбільш перспективними стимуляторами можна вважати поверхнево-активні речовини біологічного походження (біоПАР). Вони є екологічно безпечними та не поступаються за ефективністю синтетичним поверхнево-активним речовинам. Завдяки своїм фізико-хімічним і біологічним властивостям (десорбція гідрофобних речовин з ґрунту, їх солюбілізація, вплив на проникність клітинних мембран, стимуляція росту рослин та мікроорганізмів) біоПАР можуть підвищувати ступінь біологічної деструкції забруднень [2].

У зв'язку з цим метою нашої роботи була розробка методів комплексної фіторемедіації забруднених нафтою ґрунтів із використанням стійких рослин, біоПАР та мікроорганізмів-деструкторів вуглеводнів.

Дрібноділянковий експеримент проводили на забруднених нафтою ґрунтах з обєктів НГВУ «Долинанафтогаз» впродовж 1,5 років. Було використано насіння гороху польового (*Pisum arvense* L.), рамноліпідний біокомплекс (РБК) – продукт мікробного синтезу штаму *Pseudomonas* sp. PS-17, що містить рамноліпіди і полісахарид (4:1), отриманий у Відділенні фізико-хімії горючих копалин ІнФОВ [3], препарат природних мікроорганізмів-деструкторів вуглеводнів (Д) з ґрунтів, забрудненних нафтою, в один з варіантів додавали хімічний окисник – пероксид кальцію ($CaO_2$). На першому етапі у ґрунт вносили мікроорганізми-деструктори ($5\times10^6$ КУО/мл) 50 мл суспензії / 1 кг ґрунту та витримували 14 діб. Далі у ґрунт висаджували насіння гороху польового, оброблене розчином РБК (0,01 г/л), перебіг процесу контролювали у динаміці за вмістом залишкових вуглеводнів (гравіметричний метод) [4]. Дегідрогеназну активність ґрунту визначали спектрофотометричним методом з трифенілтетразолій хлоридом (ТТФ) при $\lambda = 485$ нм (Shimadzu UVmini-1240, Shimadzu Corp., Japan) [5].

Оскільки відомо, що одними з головних критеріїв ефективності процесів очищення ґрунтів є зміна вмісту забруднення та дегідрогеназна активність ґрунту, було визначено ці важливі показники у динаміці комплексної ремедіації досліджених ґрунтів (табл.).

Таблиця

Вміст залишкової нафти у ґрунтах з обєктів НГВУ «Долинанафтогаз» за комплексної фіторемедіації

| Варіанти дослідження | Вміст залишкової нафти у ґрунті,% | | |
|---|---|---|---|
| | жовтень 2013р. | липень 2014р. | січень 2015р. |
| Горох польовий (контроль) | 7,5 | 4,6 | 3,2 |
| Горох польовий контроль +Д | 7,7 | 5,6 | 2 |
| Горох польовий + РБК | 6,5 | 4,8 | 1,4 |
| Горох польовий + РБК + Д | 7,9 | 6,4 | 1,6 |
| РБК+Д+$CaO_2$ | 5,9 | 4,5 | 1,3 |

Примітка: Початковий вміст нафти у ґрунті – 9,5 %; РБК – рамноліпідний біокомплекс; Д – мікроорганізми-деструктори; $CaO_2$ – пероксид кальцію.

Як свідчать результати, кращі ефекти у 2013–2015 рр. було досягнуто у варіанті із внесенням у ґрунт РБК, препарату мікроорганізмів-деструкторів та $CaO_2$ – спостерігалося зниження вмісту вуглеводнів до 1,3%, а також у варіантах з використанням рослин, РБК та Д – 1,4% (горох польовий+РБК) та 1,6% (горох польовий+РБК+Д), що свідчить про значне зниження нафтопродуктів у ґрунті та покращенні умов росту і розвитку рослин в даних умовах. Показано також, що у процесі біодеградації забруднення зростала дегідрогеназна активність, яка є одним з показників функціональної активності ґрунтової біоти, зокрема у варіантах з додаванням РБК. Такий вплив біоПАР, на нашу думку, можна пояснити солюбілізацією гідрофобних забруднень, а також їх здатністю підвищувати проникність мембран мікробних та рослинних клітин та активність ферментів [6].

Отже, аналіз отриманих даних показав перспективність використання рослин, біоПАР (РБК), мікроорганізмів-деструкторів вуглеводнів та пероксиду кальцію при комплексній фіторемедіації ґрунтів, забруднених нафтою та нафтопродуктами.

**Література**:


1. Azadeh Vaziri, Ebrahim Panahpour and Masoud Hossein Mirzaee Beni. Phytoremediation, a Method for Treatment of Petroleum Hydrocarbon Contaminated Soils. International Journal of Farming and Allied Sciences. 2013. Vol. 2 (21). – P. 909–913.
2. Galabova D., Sotirova A., Karpenko E., Karpenko O. Role of Microbial Surface-Active Compounds in Environmental Protection. In: The Role of Colloidal Systems in Environmental Protection. Ed. M. Fanun. Elsevier B.V.: Amsterdam**.** 2014. 3. – P. 41–84.
3. Карпенко Е. В., Покиньброда Т. Я., Макитра Р. Г., Пальчикова Е. Я. Оптимальные методы выделения биогенных поверхностно-активных рамнолипидов // Журнал общей химии. 2009. – № 12. – С. 2011–2014.
4. Лурье Ю.Ю. Унифицированные методы анализа вод.изд.2-е,испр. / Ю.Ю. Лурье. – М., Химия,1973. – 376 с.
5. Casida L. Soil dehydrogenase activity / L. Casida, D.A. Klein, T. Santoro // Soil Science. 1964. – Vol. 98. – P. 319–328.
6. Карпенко О. Я., Щеглова Н. С., Новіков В. П. Біологічна очистка ґрунту від нафтових вуглеводнів з використанням біоПАР та пероксиду кальцію. Вісн. Нац. ун-ту "Львівська політехніка". 2009. – № 644. – С. 71–74.

**Баранов В.[1], Шеремета В.[2], Теглівець С.[1], Карпінець Л.[1]**
[1]Львівський національний університет імені Івана Франка, Львів, Україна
[2]Люблінський університет, Теологічний інститут ім. Й.Більчевського, Люблін, Польща

## ВКОРІНЕННЯ ЖИВЦІВ ВЕРБИ ЕНЕРГЕТИЧНОЇ В СТРЕСОВИХ УМОВАХ ЗА ВПЛИВУ ВИТЯЖОК З КОПРОЛІТІВ ПІДДАНИХ ДІЇ ЕЛЕКТРОГІДРАВЛІЧНОГО УДАРУ

Субстрати породних відвалів вугільних шахт характеризуються несприятливими едафічними умовами, зокрема практично відсутністю органічних і мінеральних речовин і тому рослини, які висаджуються при фіторемедіації відвалів, потребують підживлення органо-мінеральними добривами. Одним із дуже ефективних видів органічного добрива є копроліти дощових хробаків. Загальновідомо, що органіка повинна бути перероблена мікрофлорою ґрунту до рухомих форм, доступних рослинам, але субстрати відвалів мають бідний кількісний і якісний склад мікроорганізмів, що сповільнює процес розкладу копролітів. Відомий, але трохи забутий у наш час, електрогідралічний ефект (удар) Л.О.Юткіна, в основі якого лежить вплив імпульних електроударів на субстрат, якраз є тим засобом, який руйнує органіку і вивільнює при цьому доступні рослинам елементи живлення. В дослідах електрогідравлічного дроблення гірських порід і інших природніх матеріалів було помічено, що більшість нерозчинних речовин, які вони містять, переходять в розчинну форму.

Нами був сконструйований аналог приладу Юткіна і випробувана його дія на копролітах червяка «Старатель» селекції професора Ігоніна, витяжки із яких були використані при вкоріненні живців верби енергетичної.

На першому етапі досліджень для вкорінення були використані різні комбінації класичних регуляторів росту - ІОК, ІМК і 6-БАП, після чого досліджувався вплив витяжок із субстратів породного відвалу вугільних шахт – чорний (неперегорілий) і червоний (перегорілий) окремо і в суміші з копролітами та копролітами, підданими дії ЕГУ 15, 30 60 секунд. Обидва субстрати і обидва види копролітів та їх суміші використовували в концентрації в концентрації 20г/л. Живці по 10 штук вирощували у 0.5 л банках. Морфометричні показники коренів досліджувались через місяць від початку постановки досліду.

Комбінації класичних регуляторів росту, з якими порівнювалась потім дія дослідних витяжок, показали ефеки вкорінення в межах 131-152% від контролю. На витяжках чорної і червоної породи приріст коренів був в межах 100-108%, за дії витяжки копролітів на чорній і червоній порода -112 - 119% і за сумісної дії витяжок із порід та копролітів підданих ЕГУ – 120-126%. Отримані результати вкорінення живців поступались дії класичних регуляторів росту, однак враховуючи вартість останніх, використання копролітів є більш економічно вигідним. Змінювались і морфометричні показники коренів за дії копролітів та копролітів, підданих дії ЕГУ – довжина кореня знижувалась до 94 і 77 %, але зростала маса кореня – до 205 і 304% відповідно.

При аналізі витяжок копролітів підданих дії ЕГУ відмічено зростання вмісту загального нітрогену до 300%, аміаку з 113 мг/л у витяжці копролітів до 144 при дії ЕГУ, фосфору – 106-112%, кальцію і калію у 124 -128% при одночасному зниженні натрію до 65%.

При аналізі вмісту пігментів фотосинтезу віявлено, що витяжки із субстратів відвалу знижували вміст хлорофілу А і В і каротиноїдів. За дії копролітів та копролітів підданих дії ЕГУ відмічено зростання вмісту хлорофілу А – 236 і 240%, хлорофілу В – 160 і 164% та на 125-127% каротиноїдів. При сумісній дії витяжок субстратів та обох видів копролітів спостерігалось збільшення пігментів фотосинтезу вище за контроль на чорній породі і в 1.5-2 рази більше на червоній породі, причому ефект дії копролітів копролітів підданих дії ЕГУ перевершував дію копролітів у контролі.

Таким чином використання ЕГУ покращує поживні властивості копролітів за рахунок збільшення водорозчинних форм макроелементів, доступних рослинам, що сприяє покращенню метаболізму рослин у стресових умовах.

**Березюк Ю.Н.[1], Братухина А.А.[2], Бурцева С.А.[1], Шептицкий В.А.[2,3]**
[1]Институт Микробиологии и Биотехнологии АНМ, Кишинев, Молдова
[2]Приднестровский Государственный Университет, Тирасполь, Молдова
[3]Институт Физиологии и Санокреатологии АНМ, Кишинев, Молдова

# ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТОВ ИЗ СТРЕПТОМИЦЕТОВ ПОЧВ МОЛДОВЫ НА ПРИВЕСЫ ТЕПЛОКРОВНЫХ ЖИВОТНЫХ В ОБЫЧНЫХ И СТРЕССОРНЫХ УСЛОВИЯХ

*From soils of the central part of Moldova more than 200 Streptomycetes strains have been allocated, after the carried-out screening the most productive strains are revealed. In experiments in vivo on white laboratory male rats of line Vistar influence of biological products on the basis of studied Streptomycetes strains metabolites on additional weight have been revealed in usual conditions and in case of action the stress factors.*

Влияние стрессогенных факторов отрицательно сказывается на организме сельскохозяйственных животных, снижая их продуктивность (привесы, надои, яйценоскость, качество мяса) и резистентность к различным заболеваниям [1,2]. Для повышения резистентности к действию причин, вызывающих стресс, целесообразно включать в рацион питания биологически активные вещества: аминокислоты, липиды, ферменты и др. В качестве таких препаратов предложено применять компоненты различных культур непатогенных микроорганизмов, а также их метаболиты. Среди микроорганизмов разнообразием образуемых ими биологически активных веществ выделяются актиномицеты и, в том числе, наиболее широко распространенный в природе род *Streptomyces*. Они образуют различные стимуляторы роста и развития сельскохозяйственных животных и растений, в частности, антибиотики, витамины, ферменты, а также липиды, аминокислоты, фитогормоны и пр. [3-7]

Биологически активные вещества могут использоваться в составе биомассы или в очищенном виде. Более оптимально применение действующих веществ в виде биомассы, т.к. в ее состав входят также и белки, и аминокислоты, и липиды, а также витамины, кроме того стоимость такой добавки намного ниже стоимости очищенных препаратов [8,9].

Из почв центральной части Молдовы было выделено более 200 штаммов стрептомицетов, в том числе *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 и *S. fradiae* 19. После проведенного скрининга эти штаммы показали высокую продуктивность биомассы при культивировании на комплексных средах, которая отличалась разнообразным аминокислотным и липидным составом (незаменимые аминокислоты, физиологически важные фракции липидов – фосфолипиды, стерины). Количество биомассы составило 12,1±0,12 г/л для *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 и 14,15±0,21 г/л для *S. fradiae* 19 при культивировании на среде М-1.

Цель исследований – изучение биологической активности метаболитов штаммов стрептомицетов, выделенных из почв Молдовы.

Задачей наших исследований было определение изменения массы тела экспериментальных животных, потреблявших препарат на основе биомассы стрептомицетов, в обычных физиологических условиях и при воздействии различных стрессовых факторов. Были смоделированы: тепловой стресс – нахождение животных в термостате при температуре 36- -37° С в течение 2 часов, и иммобилизационный стресс – фиксация животных на 2 часа.

Исследования проводили на экспериментальных животных – белые крысы линии Вистар. К основному рациону питания добавлялась высушенная биомасса изучаемых штаммов

стрептомицетов: *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 и *S. fradiae* 19, в течение 3 месяцев. Биомасса добавлялась из расчета 250-300 мг/кг массы. В течение 2 недель животные контрольной и опытных групп подвергались действию стрессорных факторов, после чего следовал период восстановления.

Результаты первого этапа исследований показали, что добавление к обычному рациону биомассы *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 привело к увеличению массы тела животных по сравнению с контрольными на 23,9 – 32,2% к 9 - 12 неделе опыта, скармливание корма с добавлением биомассы *S. fradiae* 19 вызвало меньшие привесы – экспериментальные животные весили на 5,5 – 6,8 % больше по сравнению с контролем к окончанию наблюдений.

На следующем этапе проводились опыты, в которых животные подвергались действию стрессорных факторов – тепловому и иммобилизационному. У животных, получавших биомассу штамма *S. massasporeus* CNMN-Ac-06, несмотря на действие стрессора, наблюдалось некоторое увеличение массы тела, в то время как контрольные животные, получавшие обычный рацион, теряли в весе. У животных, потреблявших биомассу *S. fradiae* 19, в отличие от животных колнтрольной группы, не наблюдалось достоверного снижения массы тела в течение действия стрессорного фактора. В восстановительный период привесы у экспериментальных животных были больше, чем у контрольных.

Животные, получавшие биомассу *S. massasporeus* CNMN-Ac-06 в качестве добавки к рациону и подвергшиеся иммобилизационному стрессу, также показали увеличение массы тела во время действия стрессорного фактора, в то время как контрольные животные теряли в весе.

Таким образом, добавление к основному рациону высушенной биомассы изучаемых штаммов стрептомицетов способствует увеличению прироста массы тела как в физиологических условиях, так и при действии стрессорных факторов.

**Литература**

1. Козак В.Л. Влияние стресса на здоровье животных и человека. Практик, 2007, № 4, с. 6-9.
2. Яковлев Д. В., Винникова С. В., Громова Л. В. Влияние препарата “Стоп-стресс” на реакцию пищеварительных ферментов тонкой кишки кроликов на стресс, вызванный кратковременной иммобилизацией. Международный вестник ветеринарии, 2008, № 4, с. 30-34.
3. Gago G. et al. Fatty acid biosynthesis in actinomycetes. FEMS Microbiol. Rev., 2011, 35, pp.475–497.
4. Sohoni S.V. et al. Robust, small-scale cultivation platform for Streptomyces coelicolor. Microbial Cell Factories, 2012, vol.11, pp. 1-10.
5. Berdy J. Bioactive microbial metabolites, a personal view. J. Antibiotics, 2005, vol. 58, p. 1-26.
6. Keith F. Chater et al. The complex extracellular biology of Streptomyces. FEMS Microbiol Rev., 2010, vol. 34, pp. 171–198.
7. Remya M., Vijayakumar R. Isolation and characterization of marine antagonistic actinomycetes from west coast of India. Facta Univ. Ser. Med. Biol., 2008, 15(1), pp.13–19.
8. Бажов Г.М., Бакирева Л.А. Практическое свиноводство. Краснодар, 2002. 155 с.
9. Demain Arnold L. Small bugs, big business: The economic power of the microbe. Biotechnology Advances, 2000, 18, pp. 499–514.

**Блайда И.А., Васильева Т.В., Хитрич В.Ф., Барба И.Н., Нещерет Л.С.**
Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова, Одесса, Украина

## ЗАВИСИМОСТЬ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВЫЩЕЛАЧИВАНИЯ МЕТАЛЛОВ ОТ ИСТОЧНИКА ЭНЕРГИИ

*The results of bacterial and chemical leaching of metals from waste coal flotation concentrator from the central Lviv-Volyn coal basin were are announced. As been shown, the results of bacterial and chemical leaching were dependent on the energy sources. The comparative data efficiency of extraction of metals when using $Fe^{2+}$, $Na_2S_2O3$ and $Fe^{3+}$ were obtained. Has been established that the degree of transition metals from the solid phase into solution are depended on the energy source. For example, $Na_2S_2O_3$ proved to ineffective in bacterial leaching processes. The maximum transition of metals from the solid phase into solution was marked using $Fe^{3+}$.*

Микробное выщелачивание природного и техногенного сырья, основанное на окислительно-восстановительных реакциях ацидофильных хемолитотрофных бактерий (АХБ), способных использовать в качестве источника энергии двухвалентное железо, серу, сульфиды признано привлекательной альтернативой традиционным физическим и химическим методам. Важным резервом повышения эффективности бактериального извлечения редких металлов, например германия и галлия, из отходов углеобогащения является поиск оптимальных источников энергии. Обычно в процессах бактериального выщелачивания применяют двухвалентное железо, которое играет роль источника энергии для АХБ. В последнее время рассматривается вопрос тиосульфатного окисления минерального сырья. Для ускорения процесса выщелачивания металлов из природных руд часто стали использовать трехвалентного железо.

**Цель** данного сообщения - использование тиосульфата, двух,- и трехвалентного железа в процессах бактериально-химического извлечения ценных компонентов из отходов углеобогащения центральной обогатительной фабрики (ЦОФ) Львовско-Волынского угольного бассейна (ЛВУБ).

**Материалы и методы.** Объектами исследования служили породные отвалы ЦОФ ЛВУБ. Бактериальное выщелачивание проводили собственной ассоциацией мезофильных АХБ. В качестве выщелачивающего раствора использовали минеральный фон среды 9К, источником энергии были $Na_2S_3O_5$ и $FeSO_4x7H_2O$ в конценрациях 5,0 и 44,5 г/л, соответственно. Выщелачивание германия и других металлов проводили чановым методом при соотношении Т:Ж=1:10, pH $\leq$ 2,0 в течение недели.

**Результаты и их обсуждение.** В результате проведенных исследований показан переход всех металлов из твердой фазы в раствор независимо от источников энергии. Однако эффективность выщелачивания зависела от металла и энергетического субстрата (рис. 1). Сравнительный анализ полученных результатов свидетельствует о том, что тиосульфат как источник энергии был малоэффективен при выщелачивании металлов из породных отвалов. Тиосульфат является начальным продуктом, который далее превращается в промежуточные продукты – политионаты, с формированием сульфата в качестве конечного продукта общей реакции (Rodriguez et al., 2003):

$$S_2O_3^{2-} + 8Fe^{3+} + 5H_2O \rightarrow 8Fe^{2+} + 2SO_4^{2-} + 10H^+$$

В данном случае растворение сульфида металла происходит вследствие комбинированного действия $Fe^{3+}$ и протонов. Основным промежуточным продуктом становится элементная сера, которая относительно стабильна, но может окисляться АХБ до сульфата по следующему механизму:

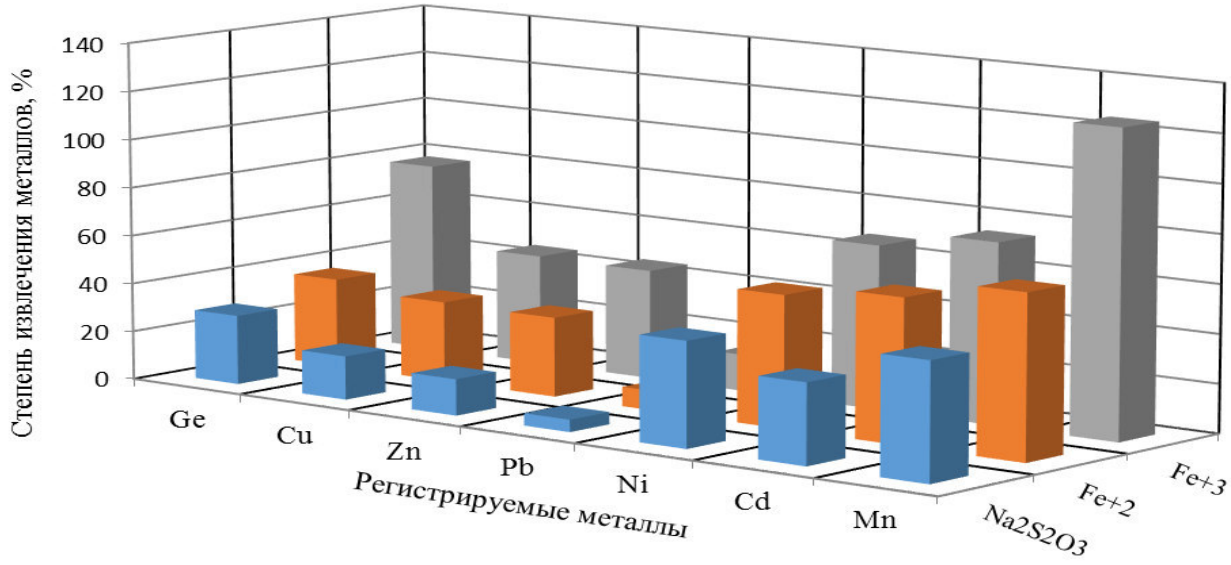



Рис. 1 – Степень извлечения металлов (%) ассоциацией ацидофильных хемолитотрофных бактерий при использовании тиосульфата, двух- и трехвалентного железа

$$MS + Fe^3 + H^+ \rightarrow M^2 + 0{,}5H_2S_n ++ Fe^{2+}$$

Это достаточно длительный путь, чем можно объяснить низкий эффект извлечения металлов. Возможно при увеличении сроков экспериментов удастся добиться повышения степени выщелачивания.

Степень извлечения металлов увеличивалась при использовании двухвалентного железа. Это достаточно быстрый, эффективный и часто используемый прием бактериального выщелачивания.

При проведении процесса бактериально-химического выщелачивания металлов в присутствии трехвалентного железа регистрировали максимальный переход металлов из твердой фазы в раствор. Это связано с тем, что скорость микробного окисления двухвалентного железа ниже, чем скорость восстановления трехвалентного.

$$MS + Fe^3 + H^+ \rightarrow M^2 + 0{,}5H_2S_n + Fe^{2+}.$$

АХБ в этих условиях, вероятно, могут ферментативно изменять валентность металлов, что облегчает их выход из твердой фазы.

Таким образом, извлечение ценных компонентов путем бактериального выщелачивания является эффективным биотехнологическим приемом вторичной переработки техногенных отходов. Этот процесс зависит от правильного выбора оптимальных условий его проведения, одним из которых является выбор энергетического субстрата.

**Литература:**

Rodriguez Y., Ballester A., Blazquez M.L., Gonzales F., Munoz J.A. New information on the pyrite bioleaching mechanism at low and hingh temperature //Hydrometallurgy. - 2003. -V. 71. --P. 37-46.

**Блайда И.А.[1], Васильева Т.В.[1], Семенов К.И.[1], Баранов В.И.[2]**
[1]Одесский национальный университет имени И.И.Мечникова, Одесса, Украина
[2]Львовский национальный университет имени И. Франко, Львов, Украина

# ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ АБОРИГЕННОЙ МИКРОБИОТЫ ДЛЯ УТИЛИЗАЦИИ ТЕХНОГЕННЫХ ОТХОДОВ УГОЛЬНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ И ЭНЕРГЕТИКИ

*The problem of the waste of coal and power industries technogenic and modern ways of its solving is discussed. The results of the metals leaching from fly ash after the combustion of coal at Ladyzhynskaya power plants and dumps of central concentrator factory of Lviv - Volyn Coal Basin are provided. The high oxidizing activity of mesophilic and moderately thermophilic community native microbiota have been shown. Assumption of the possible mechanisms of bacterial extraction of metals has been suggested*

Одной из важнейших проблем современного направления техногенной экологии и, видимо, естествознания в целом, следует считать выяснение конкретных форм воздействия широко распространенных в геологических системах микроорганизмов, в первую очередь бактерий, на природные минералы и техногенные отходы. От успехов решения этой проблемы зависит создание и реализация новейших технологий, связанных с использованием микроорганизмов для обогащения бедных некондиционных руд и извлечения металлов из отходов производства. В формирующейся теории биодеструкции минерального сырья наиболее изучена роль ацидофильных хемолитотрофных бактерий (АХБ) - различных представителей родов *Acidithiobacillus* и *Sulfobacillus*, в разрушении природных минералов (Кузякина Т.И. и др., 2008). Способность АХБ получать энергию при окислении сульфидных минералов, закисного железа, элементной серы и ее восстановленных соединений использована для получения ценных металлов из сульфидных руд и промышленных концентратов, но может быть реализована и для техногенного сырья. Накопление отходов угледобывающей и энергетической промышленности в настоящее время приобретает угрожающий характер. В ранее проведенных исследованиях показана возможность бактериального извлечения металлов из отходов угледобычи и энергетики активными микроорганизмами аборигенной микробиоты (Блайда И.А. и др., 2013, 2014).

**Цель** данного сообщения – оценить возможность бактериального выщелачивания металлов из техногенных отходов топливно-энергетического комплекса Украины с использованием мезофильного и умеренно термофильного аборигенного сообщества АХБ.

**Материалы и методы** В работе использовали субстраты золы-уноса от сжигания каменного угля на ДТЭК «Ладыжинская ТЭС» и породных отвалов флотационного/гравитационного обогащения углей Львовско-Волынского угольного бассейна на ЦОФ «Червоноградская». В качестве выщелачивающего раствора использовали минеральный фон среды Сильвермана-Лундгрема 9К, источником энергии служило двухвалентное железо в концентрации 44,5 г/дм$^3$. Выщелачивание проводили чановым методом с использованием собственной мезофильной и умеренно термофильной ассоциации АХБ при соотношении Т:Ж=1:10, pH≤2,0 и температуре 32,0±2,0 и 45,0±2,0 $^0$C, соответственно.

**Результаты и их обсуждение.** Бактериальное извлечение металлов с использованием консорциума АХБ породных отвалов и золы-уноса приводило к переходу металлов из твердой фазы в раствор; эффективность выщелачивания зависела от природы субстрата, выщелачиваемого металла и температуры процеса. Полученные данные (табл. 1)

свидетельствуют о высокой окислительной активности мезофильного и умеренно термофильного сообщества АХБ, обитающих в породных отвалах и золе-уносе.

Таблица 1 - Степень извлечения металлов (%) из породных отвалов и золы-уноса аборигенным сообществом мезофильных и умеренно термофильных АХБ

| Металлы | Зола-унос Ладыжинской ТЭС | | Породный отвал ЦОФ | |
|---|---|---|---|---|
| | Ассоциация мезофильных АХБ | Ассоциация умеренно термофильных АХБ | Ассоциация мезофильных АХБ | Ассоциация умеренно термофильных АХБ |
| Ge | 99,76 | 99,98 | 98,32 | 99,91 |
| Ga | 94,92 | 82,75 | 75,12 | 99,73 |
| Ni | 76,64 | 84,94 | 89,56 | 99,01 |
| Cd | 99,99 | 69,95 | 58,72 | 68,76 |
| Cu | 89,54 | 69,37 | 47,93 | 78,45 |
| Zn | 20,22 | 20,82 | 37,69 | 45,75 |
| Mn | 37,75 | 47,85 | 24,93 | 63,57 |
| Pb | 35,67 | 19,34 | 18 | 57,9 |

Высокая степень извлечения металлов консорциумом собственной мезофильной микробиоты вполне объяснима синтрофными отношениями между микрооганизмами, когда деятельность одних невозможна без других. Возможно, *Acidithiobacillus thiooxidans*, присутствующий в микробиоценозе вместе с *Acidithiobacillus ferrooxidans*, более быстро окисляет серу и создает условия для деятельности железоокисляющих бактерий. В условиях наших экспериментов бактериально-химическое извлечение металлов из техногенних субстратов может проходить по следующей схеме:

$$MeS + Fe_2(SO_4)_3 \rightarrow MeSO_4 + 2FeSO_4 + S^0$$

$$2S^0 + 3O_2 + 2H_2O \rightarrow (\text{бактерии}) \rightarrow H_2SO_4$$

Эффективность выщелачивания металлов сообществом умеренно термофильных АХБ подтверждает высказанное предположение.

Таким образом, основным результатом представленной работы было подтверждение высокой активности аборигенной микробиоты, как мезофильной, так и умеренно термофильной, обитающей в исследованных техногенных отходах. Фундаментальные исследования в области процессов бактериально-химического выщелачивания металлов позволят повысить степень извлечения металлов из природного и техногенного сырья различного происхождения. Кроме того, микробные технологии экологически безопасны, более эффективны и имеют большую перспективу для решения проблемы комплексного и рационального использования природных ресурсов.

**Литература**

1. Кузякина Т.И., Хайнасова Т.С., Левенец О.О. Биотехнология извлечения металлов из сульфидных руд//Вестник наук о Земле. – 2008. – Т. 60, Вып. 12. – С. 76–85.
2. Блайда И.А., Васильева Т.И., Баранов В.И.. Использование биогидрометаллургических технологий в решении проблем утилизации техногенных отходов с получением ценных металлов // Комплексное использование минерального сырья.-2015.-№3.-С. 75-82.
3. И. А. Блайда, Т. В. Васильева, Л. И. Слюсаренко, И. Н. Барба, В. А. Иваница. Состав и выщелачивающая активность микробиоценоза техногенных отходов энергетики [Електронный ресурс] // Проблеми екологічної біотехнології. – 2013.- № 1.- Режим доступу до журналу: http://jrnl.nau.edu.ua/index.php/ecobiotech/article/view/4592

**Бойко М.В., Патика М.В., Патика Т.І.**
Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ, Україна

## БІОТЕХНОЛОГІЧНИЙ СПОСІБ ОТРИМАННЯ ЕНТОМОПАТОГЕННИХ ПРЕПАРАТІВ НА ОСНОВІ *BACILLUS THURINGIENSIS*

*Presented scientific, theoretical and practical aspects of biotechnological obtaining formulations from natural strains of entomopathogenic bacteria (B. thuringiensis var. thuringiensis № 800 and № 87) Optimized technological conditions of cultivation of the specific characteristics of strains producers, that is important to use in the laboratory and industrial production of microbial preparations to protect plants from harmful objects.*

Оптимізація біотехнологічного виробництва ентомопатогенних препаратів на основі бактерій *Bacillus thuringiensis (Bt)* пов'язана з вирішенням ряду проблем мікробіологічного синтезу в комплексі з селекційними дослідженнями аксенічних культур і підбором умов культивування. Унікальна особливість бактерій ─ це їх здатність швидко розмножуватись при достатньої кількості ресурсів, які необхідні для отримання енергії, конструктивного субстрату та донора електронів. При цьому фізіологічні властивості бактерій та фракційний склад клітини тісно пов'язані зі швидкістю росту, яка, у свою чергу, залежить від зовнішніх умов, зокрема від складу поживного середовища [ 1, 2 ].

Промислове культивування штамів-продуцентів *Bt* спрямовано на отримання максимального виходу ентомоцидних компонентів (екзо-, ендотоксинів, супутніх біологічно активних метаболітів), що визначає інсектицидну активність біопрепаратів даної групи відносно широкого спектру чутливих комах-«шкідників». Відомо, що процес споро- та кристалоутворення ентомопатогенної культури *Bt* залежить від джерел азотного, вуглецевого живлення та їх співвідношення, присутності в середовищі необхідних концентрацій мінеральних сполук, цукрів [3], оскільки використання високих рівнів субстратних компонентів без відповідного коригування концентрацій за джерелами азоту може викликати зміни показників pH середовища (від 6,0 до 8,0), що практично призводить до уповільнення процесів токсино-, спороутворення. До основних параметрів, які контролюються у процесі біотехнологічного виробництва, відносять також температурні діапазони (30 $^{o}$C ± 2 $^{o}$C), режими аерації тощо.

Таким чином, цілеспрямовані скринінгові дослідження біологічного потенціалу природних метаболітів та розробка на їх основі технологій сучасного виробництва ентомоцидних, ентомотоксичних препаратів з функціями фітозахисту, а також різнорівнева оптимізація етапів культивування природних штамів-продуцентів є актуальною проблемою.

**Мета роботи –** науково-теоретичне обґрунтування та розробка технологічних параметрів отримання мікробних препаратів на основі ентомопатогенних бактерій *Bacillus thuringiensis (Bt*) за критеріями конструювання оптимізованих поживних середовищ і умов культивування.

**Матеріали і методи**. В роботі використано референтний екзотоксиногенний штам *B. thuringiensis var. thuringiensis (Bt $H_1$)* № 800 із колекції культур ІСГМАВ НААН, м. Чернігів. Селективний штам природного типу *B. thuringiensis var. thuringiensis* (*Bt* $H_1$) № 87, колекція корисних грунтових мікроорганізмів ІСГМАВ НААН.

Для культивування використовували універсальні поживні середовища: м'ясо-пептонний бульон (МПБ), Луріа Бертрані (LB),а також оптимізовані лабораторно-промислові середовища дріжджо-полісахаридного складу (3,0% білково-вітамінний комплекс +1,5% кукурудзяне борошно), технологічні середовища з мелясою (4,0%), які створюють відповідні вибіркові умови для розвитку специфічно адаптованих бактерій *Bt.* Культивування

проводили на біотехнологічній качалці (200 об./ хв.., температура +30 ˚С упродовж 48-72 годин). Об'єм середовища 50, 100 мл, кількість інокулюма ─ не менше 4,0% від об'єму середовища (титр КУО 2,5-3,0 млрд./мл культуральної рідини, який визначали шляхом інокуляції на агаризоване середовище та підрахунку в камері Горяєва). В процесі розробки оптимальних технологічних параметрів культивування штамів *Bt* визначали наступні показники: продуктивність аксенічної культури шляхом гранічних розведень, інтенсивність утворення ентомоцидних метаболітів за відсотком загибелі біотесту – личинок *Leptinotarsa decemlineata* Say. $L_{1-2}$ при інфікуванні культуральною рідиною в розведеннях 1:1; 1:10; без розведення . Біологічну активність рідких препаративних форм штамів *Bt* оцінювали у модельних дослідах на інтактних і контактних популяціях *Leptinotarsa decemlineata* Say. $L_{1-4,}$ повторність трикратна (по 25 личинок в кожній). Кількість загиблих особин враховували на 5, 7, 10 добу досліду за показником $ЛК_{50.}$

**Результати та їх обговорення.** Результати досліджень свідчать про позитивний вплив трофічних ресурсів, підібраних для культивування *Bt,* на продуктивність і активність ентомотоксичних компонентів, а саме споро-кристалічного комплексу (табл. 1).

Таблиця 1. Вплив трофічних ресурсів на продуктивність ентомоцидних штамів *B. thuringiensis var. thuringiensis* (модельний дослід)

| Поживне середовище / штам-продуцент | Продуктивність, $1x10^9$ спор/мл | Загибель *Leptinotarsa decemlineata* Say. $L_{1-2}$ від споро-кристалічного комплексу (співвідношення 1:1), % на 10 добу |
|---|---|---|
| Лабораторно-промислове (дріжджо-полісахаридний ресурс) / штам №87 | 2,5 ─ 3,3 | 96,8 |
| Лабораторно-промислове (дріжджо-полісахаридний ресурс) / штам №800 | 2,1 ─ 2,8 | 95,6 |
| Промислове (з мелясою) / штам 87 | 2,4 ─3,0 | 92,0 |
| Промислове (з мелясою) / штам 800 | 2,5 ─ 2,8 | 94,3 |
| Універсальне I (МПБ) / штам 87 | 1,5 ─ 1,8 | 85,0 |
| Універсальне I (МПБ) / штам 800 | 1,6 ─ 2,0 | 88,3 |
| Універсальне II (LB) / штам 87 | 2,0 ─ 2,4 | 87,7 |
| Універсальне II (LB) / штам 800 | 1,7 ─ 2,2 | 89,0 |

Примітка: представлено результати трьох дослідів, де титр життєздатних спор наведений за мінімальними та максимальними межами варіювання продуктивності культур *Bt*.

Отже, дослідження впливу поживних середовищ на продуктивність штамів *Bt* першого серотипу показали різний технологічний ефект та прояв ентомоцидної активності ─ від 1,6 до 3,3 млрд спор/мл та від 85,0 до 96,8% відповідно. Крім цього, на дріжджо-полісахаридному середовищі спостерігали синхронне спороутворення, яке

супроводжувалось більш високим виходом кристаличного ендотоксину, ніж на звичайних універсальних середовищах. Найбільш сприятливим виявилося співвідношення білково-вітамінного комплексу до кукурудзяного борошна 2:1 (3,0% і 1,5% відповідно). При цьому досягається найбільший титр ентомоцидних компонентів в культурах *Bt* ─ 2,8 і 3,3 млрд/мл. Виразний максимум загибелі личинок *Leptinotarsa decemlineata* Say. молодшого віку ($L_{1-2}$) на десяту добу досліду зафіксовано при інфекційному навантаженні 1:1. Так, на десяту добу досліду зафіксовано близько 96,0 – 97,0% загибелі личинок. При інфікуванні бактеріальними суспензіями *Bt* з меншим титром спор (1,5 ─ 1,7 млрд/мл) на варіантах середовищ МПБ, LB одержано показники ентомоцидності, які не перевищували 89,0%.

**Висновки.** Дослідження накопичення біомаси культур *Bt* в різних поживних середовищах (максимальний титр життєздатних спор і кристалів до 3,0 млрд./мл) та оцінка функціональної спроможності отриманих рідких препаратів (біотестування щодо ентомоцидності, загибель *Leptinotarsa decemlineata* Say. $L_{1-2}$ більше 80,0%) дає можливість поглибити науково-теоретичні, практичні знання і підходи в області біотехнології, мікробіологічного синтезу та аналізу культур в градієнті середовищ, які за своїм складом максимально наближені до природних.

**Література:**

1. Perchat, S.; Dubois, T.; Zouhir, S.; Gominet, M.; Poncet, S.; Lemyl, C.; Aumont-Nicaise, M.; Deutscher, J.; Gohar, M.; Nessler, S.; *et al*. A cell–cell communication system regulates protease production during sporulation in bacteria of the Bacillus cereus group. *Mol. Microbiol.* 2011, *82*, 619–633.
2. Ennouri, K., Ben Ayed, R., Ben Hassen, H., Azzouz, H, Triki, M.A; Improvement of the production of entomopathogenic proteases of Bacillus thuringiensis. Tunisian Journal of Plant Protection 2015, 10: 95-103
3. Микробиоконтроль численности насекомых и его доминанта *Bacillus thuringiensis* /Кандыбин Н.В., Патыка Т.И., Ермолова В.П., Патыка В.Ф. Монография. - СПб, Пушкин: Научное издание «Инновационный центр защиты растений», 2009. – 252 с.

**Boyko A.A.[1], Zhuminska G.I.[2], LukinaA.V.[2], Zakernichnaya I.V.[2], Ivanytsia V.A.[2], Tovkach F.I.[1]**
[1]Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, Kyiv, Ukraine
[2]Odesa I.I. Mechnikov National University, Odesa, Ukraine

## МОЖЛИВІСТЬ БІОКОНТРОЛЮ БАКТЕРІЙ АСОЦІЙОВАНИХ З РОСЛИНАМИ ЗА ДОПОМОГОЮ СПЕЦИФІЧНИХ БАКТЕРІОФАГІВ

*The work relates to the general problem of complex relationships in ecosystems involving pathogenic bacteria from the microbial community that accompanies the pathogenic process. The phage-cell relationship between virulent phages and Pantoea agglomerans, which is the most widespread bacteria, is established. The universal indicator system to identify phages of Agrobacterium vitis and Erwinia amylovora tree pathogens, based on in situ soil studies, is offered. Results of work are also about the presence of lysogenic state in P. agglomerans, A.vitis, E. amylovora and the creation of biotechnology to produce large quantities of bacteriophages using fermenter. The general scheme of obtaining bacteriophages can be expanded not only in plant pathology but also in medicine and veteranari.*

На сьогодні стан вивчення бактеріофагів фітопатогенних бактерій, які особливо небезпечні для агропромислового виробництва таких, як *E. amylovora*і, *A. vitis* не дозволяє ефективно проводити біологічні заходи для боротьби і захисту від враження рослин опіком плодових дерев і раком винограду. Фаги *E. amylovora* є важливим предметом вивчення, втім на сьогодні секвеновано і занесено до бази даних GenBank лише 11 геномів. Виділені і охарактеризовані 24 нових бактеріофага, вірулентні до бактерій *E. amylovora* [*BornY. etal.,* 2011]. Встановлено, що бактерії *E. amylovora* інфікують прокаріотичні віруси з хвостовими відростками трьох основних родин *Myoviridae*, *Siphoviridae* і *Podoviridae* [*Adriaenssens E.M. et al., 2011*;*Born Y. et al.,* 2011]. Представники цих родин складають 24,8%, 57,3%, і 14,2% від усіх бактеріальних вірусів, відповідно [*AckermannH.W.,* 2012]. Що стосується фагів *A. vitis*, то про їх природу та розповсюдження взагалі відсутня будь-яка інформація як у вітчизняній так і у зарубіжній літературі. Сучасний стан науки свідчить про те, що всі бактеріофаги, які персистують разом з важливою фітопатогенною бактерію *E. amylovora*є вірулентними і не завжди активні щодо основного патогена [*TovkachF.I. etal.,* 2013; *TovkachF.I. etal.,* 2013; *FaidukY.V.*, 2015]. Відомі фаги виділені з зазначених екологічних ніш мають різну морфологію [MüllerI., etal., 2011, *RoachD. R. etal.,* 2013; *MeczerK.,* 2014] і первинну послідовність геному [*DomotorD.* etal., 2012]. Дані фаги є також полівалентними і вражають *P. agglomerans*, яка, як правило, супроводжує патоген.

Метою роботи був пошук нових вірулентних бактеріофагів як агентів біоконтролю для фітопатогенних бактерій *E. amylovora* і *A. vitis* із запровадженням нової універсальної системи на основі набору штамів *P. agglomerans*для індикації полівалентних вірулентних фагів деревних патогенів.

В роботі використані нові методологічні підходи які включали оригінальне ізолювання та ідентифікацію бактерій та бактеріофагів із місць ураження рослин патогенними бактеріями *E. amylovora* і *A. vitis*, а також розділення превалюючої і мінорної частини популяції бактеріофагів із застосуванням хроматографічного методу розділення (LPLC-хроматографія) за рахунок різної спорідненості вірусних часток до DEAE-целюлози. Дослідження проводили з використанням ряду індикаторних культур *P. agglomeransg 157, g157/RI, 9/7-2, g150* і *Erwinia amylovora K8*. Морфологія негативних колоній на даному штамі була найбільш чітко вираженою. Стійкі до фагів R-мутанти одержували, використовуючи максимальну концентрацію віруса, яка складала 2X10 $^{10}$ БУО/мл, а також, концентрацію 2X10$^{9}$. Для ідентифікації часток фагової природи використано їх електрофоретичне розділення в гелях

агарози. Ідентифікацію плазмід і фагів здійснювали за допомогою поліморфізму фрагментів рестрикції їх ДНК.

Після клонування на бактеріальних мутантах одержані чисті лінії 5-ти фагів. Дані фаги мали літичну природу та відрізнялись від превалюючих фагів за морфологією негативних колоній, які на мутантних штамах утворювали чітко оформлені невеликі прозорі бляшки. За даними електроно-мікроскопічного аналізу дані вірулентні фаги були віднесені до родини *Siphoviridae* B1-морфотипу з нескоротливим хвостовим відростком. Характер розподілу рестрикційних фрагментів ДНК нових літичних фагів відрізнявся від таких КЕУ-подібних превалюючих бактеріофагів.

**Література**


1. Roach D.R. et al. Host exopolysaccharide quantity and composition impact Erwinia amylovora bacteriophage pathogenesis. In: Applied and Environmental Microbiology.- 2013. - Vol.79, № 10, P. 3249–3256.
2. Meczer K., Dömötör D.,Vass J., Rakhely G.,Schneider G., Kovacs T. The genome of the Erwinia amylovora phage PhiEaH1 reveals greater diversity and broadens the applicability of phages for the treatment of fibre blight // FEMS Microbiol Lett. – 2014. – Vol. 350, №1. – P. 25 – 27.
3. Dömötör D., Becsagh P., Rakhely G.,Schneider G., Kovacs T. Complete genomic sequence of Erwinia amylovora phage PhiEaH2 // J. Virol. – 2012. – Vol. 86, №19, P. 10899.
4. Ackermann H. W., Prangishvili D. Prokaryote viruses studied by electron microscopy. In: Archives of Virology, 2012, Vol. 157, №. 10, P.1843-1849.
5. Müller I., et al. Molecular and physiological properties of bacteriophages from North America and Germany affecting the fire blight pathogen *Erwinia amylovora*. In: Microbial Biotechnology, 2011*b*, Vol.4, № 6, P. 735–745.
6. Born Y. et al. Novel virulent and broad-host-range *Erwinia amylovora* bacteriophages reveal a high degree of mosaicism and a relationship to *Enterobacteriaceae* phages. In: Applied Environmental Microbiology, 2011, Vol. 77, P.5945-5954.
7. Adrianssens E.M., Ceeyssens P-J., Dunon V., Ackermann H. W., Vaerenbergh J.V., Maes M., De Proft M., Lavigne R. Bacteriophages LIME light and LIMEzero of *Pantoea agglomerans*, Belonging to the »phiKMV-Like Viruses» // Appl. Envirol. Microbiol. – 2011. Vol. 77, №10. – P. 3443 – 3450.
8. Tovkach F.I ,Moroz S.N.,Korol N.A., Faiduk Y.V., Kushkina A.I. Поливалентность бактериофагов, изолированных из плодовых деревьев, пораженных бактериальным ожогом // Мікробіологічний. журнал – 2013. – 75, №2. – С. 80 – 88.
9. Tovkach F.I., Faiduk Y.V., Korol N.A., Kushkina A.I., Moroz S.N., Мучник Ф.В.Электронная микроскопия и рестрикционный анализ бактериофагов, изолированных из айвы и груши с симптомами бактериального ожога // Мікробіологічний журнал. – 2013. – 75, № 5.- С. 67 – 75.
10. Y.V. Faiduk, A.A. Boyko, F.V. Muchnyk,F.I. Tovkach Virion morphology and structural organization of polyvalent bacteriophages TT10-27 and KEY // Мікробіологічний журнал. – 2015. – 77, № 3.- С. 36 – 46.

**Brodyazhenko T., Vasilyeva T., Limanska N.**
Odessa I.I.Mechnikov National University, Odessa, Ukraine

## STUDY OF PHENOTYPIC PROPERTIES OF CHEMOLITHOTROPHIC ACIDOPHILIC BACTERIA ISOLATED FROM TECHNOGENIC WASTES

*Изучены физиолого-биохимические и практически полезные свойства ацидофильных хемолитотрофных бактерий, изолированных из техногенних отходов углеобогащения с высоким содержанием тяжелых металлов. По культурально-морфологическим свойствам изученные штаммы практически не отличались, однако выявлены отличия в скорости роста, накоплении биомассы и окислению энергетических субстратов. Результаты изучения основних биологических свойств ацидофильных хемолитотрофных бактерий позволили предварительно отнести их к роду Acidithiobacillus, новым пердставителям Acidithiobacillus ferrooxidans и Acidithiobacillus thiooxidans. Все изученные штаммы были способны выщелачивать металлы из техногенних отходов; степень извлечения металлов зависела от штамма и метала. Отобранны наиболее эффективные штаммы для использования в процессах биовыщелачивания.*

In biotechnological processes the leaching of metals using bacteria from different physiological groups; often this is chemolithotrophic acidophilic bacteria (ACB) as mesophilic as moderately thermophilic. They have a number of useful features such as the ability to use energy simultaneously several inorganic compounds (sulfur, compounds of sulfur, ferrous iron, natural and industrial raw materials containing metals), resistance to heavy metals, the ability to grow at low pH and in a wide range of temperatures.

The object of work is study the basic biological and practically useful properties ACB that extracted from the waste heaps of Central Processing Plant of Lvov-Volyn coal basin.

Materials and methods**.** It have been studied by using classic and modern microbiological and physico-chemical methods the basic properties of acidophilic chemolithotrophic bacteria assigned to base of their systematic – Gram strain - range and optimum of temperature and pH - relation to different energy sources (iron, sulfur, compounds of sulfur); - the ability to grow in autotrophic and mixotrophic conditions; - resistance to heavy metals; - the leaching of metals [Karavayko, 2006; Loginov, 2011]. The strains have been cultivated and supported on liquid and agar medium of 9K, as the energy used ferrous iron in concentrations 12,0 g/l and 44,5 g/l, and thiosulfate in concentration 5,0 g/l.

Results and discussion**.** Established that culture which studied almost haven't different from each other and had the appearance of small, short, straight sometimes slightly curved single, arranged in pairs or short chains of rod-shaped cells, spores haven't form, the Gram have stained negative. The base of taxonomy of thiobacteria have been founded on attitude to the energy sources. On this basis the culture studied were conditionally divided by 2 groups. The strains of 1 group oxidized ferrous iron, sulfur, thiosulphate; the culture of 2 group which used as a source of energy only sulfur and compounds of sulfur. The cultures 1 and 2 groups growing in autotrophic conditions with different energy sources, on nutrient media with different component and concentration composition - Silverman-Lundhrema 9K, Leten, Waxman, Vyshnyak.

The obtained results confirm the existing literature data that these bacteria have't exactly specified the need for mineral nutrition; they are able to grow in a highly mineralized environments, and at low salt loads. The installed capble of mesophilic ACB the 1 and 2 groups to growth in mixothrophic conditions with additional growth factors the carbohydrate and protein (glucose, molasses, yeast extract) origin in concentrations of 0,02%. But on the full organic media - MRS Gorbenko, FRS - these cultures haven't grown.

ACB cultures that isolated from man-made waste enrichment, resistance a high level of heavy metals. Established that the minimal concentrations of copper, lead, zinc, cadmium, nickel, in which bacteria is growth, several times their content in waste dumps were removed from these cultures. A significant lack of knowledge regarding chemolithotrophic tionic acidophilus bacteria refers to growth of some cultures. Bacteria of the genus *Acidithiobacillus* represent slow-growing microorganisms. This is so they use low energy inorganic substrate - sulfur or ferrous iron. Therefore, the selection of strains that differ at maximum speed of growth and the accumulation of a significant amount of biomass is important for their use in the processes of bacterial leaching of metals. Great importance is not only in amount of biomass, also oxidation activity of energy source is important too. Under the conditions of our research, amount of the biomass that were synthesized by researched bacteria, differ slightly. Comparative analysis of biomass accumulation and oxidation of iron by strains shows that biomass is not correlated with the degree of oxidation of iron. By results of these experiments were selected three most active cultures for use in biotechnological processes of leaching of metals.

All strains that were examined, had the ability to leach metals from waste of technogenic flotation of coal enrichment. The efficiency of leaching of metals depended on strain , metal and source of energy. So, while using ferrous iron ,regardless of the strain - manganese, cadmium and nickel almost completely passed from the solid phase to a solution ; transition of copper, zinc and lead was much smaller and depended on the strain. In the presence of thiosulfate degree of extraction was minimal [Blayda, 2015].

Thus, for the first time, were studied the important properties of mesophilic ACB, that were extracted from technogenic waste of coal flotation enrichment. It was established that the main distinctions were in the nature of strain diversity. Based on the data on use of sources of energy, we can assume identity of cultures that studied to the genus *Acidithiobacillus.* Bacteria, that oxidized sulphur ($S^{+2}$), thiosulfate ($Na_2S_2O_3$) and divalent iron compounds ($FeSO_4$) , conventionally assigned to *Acidithiobacillus ferrooxidans* (Group 1) and ,those that oxidized only sulfur and thiosulfate according to *Acidithiobacillus thiooxidans* (Group 2). Molecular genetic analyzes (PCR) are conducted for the additional detection of studied microorganisms and features of strains. Studied strains, joined unique collection of practically useful ACB bacteria, that actively leaches the metals from mineral technogenic origin. The results will allow to use active strains in the process of bioleaching in future and also in obtaining of bacterial preparation to improve the extraction of metals from minerals.

**References**

1. Karavayko G.I, Dubynyna G.A., Kondratyev T.F.- Lithotrophic microorganisms of oxidizing of iron and sulfur cycles // Microbiology. -2006. - T. 75, № 5. - P. 593-625.
2. Loginov O.N., Bakaev M.D., Silishchev N.N. - New strains of microorganisms for the efficient leaching of non-ferrous metals from sulphide ores // News of Ufa Scientific Center, Russian Academy of Sciences. Biology, Biochemistry, Genetics - 2011, number 3-4. - P. 47-51.
3. Blayda I.A., Vasilyeva T.V., Baranov V.I., Semenov K.I., Slyusarenko L.I., Baraba I.N. - The biological properties of new strains of Chemolithotrophic bacteria, selected from technogenic substrates // Biotechnologia Acta. – 2015.- Vol.8 (6).- P.56-62. doi: 10.15407/biotech8.06.056.

**Бунчак О.М.**
Подільський державний аграрно-технічний університет, Кам'янець-Подільський, Україна

## ВПЛИВ ОРГАНІЧНИХ ДОБРИВ ТА РЕГУЛЯТОРА РОСТУ ІЗ ЗБАЛАНСОВАНИМ УМІСТОМ $CR^{+3}$ НА УРОЖАЙНІСТЬ І ЯКІСТЬ ЗЕРНА ВІВСА

*The results of research on the Influence of organic fertilizer "Bioproferm" and the regulator "Biohrom" with a balanced content of Cr+3 on the yield and quality of grain oats*

За останні роки вчені і практики все більше увагинадають вивченню мікроелементу хрому, який вважають одним із необхідних елементів для повноцінного росту й розвитку як людей, так і тварин. Його дефіцит в організмі призводить до пригнічення росту, порушення енергетичних процесів унаслідокпослаблення рецепторної здатності і функціональної активності інсуліну, змін в обміні вуглеводів та ліпідів, у тварин зменшується приріст живої маси. Окремі вчені вважають, що наслідком невідповідного надходження елемента його абсорбації чи використання, приводить до розладів у засвоєнні глюкози клітинами та чутливості до інсуліну, пов'язані зі змінами метаболізмі хрому.

У розробленнітехнології норм годівлі сільськогосподарських тварин і птиці цьому елементові не надається належна увага, не має даних про забезпечення ним раціонів, не досліджено його уміст в ґрунті, у воді, в рослинних кормах. Правда, за останні роки є ряд досліджень,виконаних вченими Інституту біології тварин НААН з вивчення вмісту і біохімічних механізмів дії хрому в організмі людини і тварин, білковий склад печінки скелетних м'язів курчат-бройлерів за різного рівня хрому в раціоні, розроблення складу і досліджень нової вітамінної добавки з $Cr^{3+}$ для потреб ветеринарної медицини[1].

Однак, виробництво органічних добрив з необхідним вмістом тривалентного хрому в Україні не налагоджено.А тому метою наших досліджень було– розробити технологію виробництва органічних добривз відходів шкіряного виробництва та осаду очисних споруд методом біологічної ферментації із збалансованим вмістом мікроелементу $Cr^{3+}$ і встановити науково обґрунтовані норми внесення їх, які б забезпечили покращання властивостей грунту, ґрунтового біоценозу, збільшення врожайності сільськогосподарських культур та покращення якості вирощеної продукції.

З метою розроблення технології виробництва органічного добрива „Біопроферм" із збалансованим умістом $Cr^{3+}$ виконано дослідження різних варіантів підбирання сировини, де основними компонентами були: мездра, тирса, осад з вмістом $Cr^{3+}$ і продукт технології висадки $Cr^{3+}$ з хромових соків $Cr(OH)_3 + CaSO_4$.

На основі проведених досліджень нами розроблено технологію виробництваметодом пришвидшеної ферментації органічного добрива "Біопроферм"та регулятора росту "Біохром" з допомогою кавітаційної витяжки, які, крім гумінових речовин, макро і мікроелементів містять збалансовану кількість $Cr^{3+}$[2,3].

Дослідження з вивчення впливу органічного добрива "Біопроферм" та регулятора "Біохром" на урожайність і якість зерна вівса виконували упродовж 2013-2015рр. на дослідному полі Подільського ДАТУ.

Таблиця. Врожайність вівса культур залежно від внесення органічного добрива „Біопроферм” та регулятор "Біохром"з умістом $Cr^{3+}$(середнє за 2013-2015 рр.)

| № п/п | Варіант досліду | Урожайність, т/га | Уміст $Cr^{3+}$ в зерні, мг/кг |
|---|---|---|---|
| 1 | Без добрив – контроль | 2,38 | 0,323 |
| 2 | Внесення $N_{120}P_{80}K_{80}$ | 2,92 | 0,325 |
| 3 | Внесення $N_{120}P_{80}K_{80}$+„Біохром” – 5 л/га | 3,28 | 0,374 |
| 4 | Внесення „Біоактив”– 10 т/га | 3,17 | 0,406 |
| 5 | Внесення „Біоактив” – 10 т/га + „Біохром”– 5 л/га | 3,46 | 0,453 |
| 6 | Внесення „Біопроферм”– 10 т/га | 3,25 | 0,499 |
| 7 | Внесення „Біопроферм” –10 т/га + „Біохром”– 5 л/га | 3,69 | 0,657 |

Дослідженнями встановлено, що у варіанті, де вносили восени під зяблеву оранку 10 т/га органічного добрива"Біопроферм"і під час вегетації обприскували рослини регулятором росту „Біохром” у дозі 5 л/га, була найвища урожайність вівса – 3,69 т/га або на 1,31 т/га більше порівняно до контролю,в зерні вівса був найвищий уміст тривалентного хрому 0,657 мг/кг вівса, або порівняно до контролю на 0,317 мг/кг більше.

Таким чином, на основі виконаного нами дослідження встановлено, що застосування органічного добрива „Біопроферм”із збалансованим вмістом $Cr^{3+}$(300-600 мг/кг) та регулятори росту „Біохром” (5-6 мг/л) позитивно впливає на ріст і розвиток вівса упродовж всього періоду вегетації, забезпечує збільшення врожайності на 36-54 % і отримання екологічно чистої продукції з умістом необхідної кількості тривалентного хрому.

**Література**

1. Хром у живленні тварин: Монографія / Р.Я. Іскра, В.В. Влізло, Р.С. Федорук, Г.Л. Антоняк. – К.: Аграр. Наука, 2014. – 312 с.
2. Бунчак О. М. Отримання рідкого органічного добрива-стимулятора „Біохром” для позакореневого живлення рослин /О. М. Бунчак; Зб. Харківського НУ ім. В. Н. Каразіна. – Харків, 2014. – С. 151-152.
3. Бунчак О. М. Виробництво органічних добрив та гумінових регуляторів з відходів шкіряного виробництва методом ферментації та кавітації /О. М. Бунчак. – Дніпропетровськ, 2010. – С. 71- 72.

**Василенко О.В., Боднар О,І,**
Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка, Україна

## РЕГУЛЯЦІЯ ВМІСТУ ПІГМЕНТІВ У *CHLORELLA VULGARIS*

*The aim of the research was to determine the conditions of Chlorella vulgaris Beij. algosubstantion enriched with selenium and bioactive metals obtaining in aquaculture. The content of alga pigments under the action of sodium selenite in concentrations of (calculated using $Se^{4+}$): 0,5 5.0, 10.0 and 20.0 mg/dm$^3$ under simultaneous action of selenite and $Zn^{2+}$, $Mn^{2+}$, $Co^{2+}$, $Cu^{2+}$, $Fe^{3+}$. The pigments content in Ch. vulgaris increases 1,5–2,5 times in comparison with the retention sample under the influence of 10,0 mg of $Se^{4+}$/dm$^3$ with and without of metal ions; chlorophylls a/b ratio increases. The cultivation of chlorella enriched with selenium and bioactive metals is possible within 7 days under the influence of selenite (10 mg of $Se^{4+}$/dm$^3$) and mentioned concentration of appropriate metal ions.*

Унікальність властивостей рослинних пігментів загалом, і хлорофілів зокрема, дає змогу застосовувати їх як біоактивну добавку з імуномодулюючою та антиоксидантною дією у харчовій промисловості, аграрному секторі, медицині, фармації та косметології. Одним з найбільш перспективних джерел отримання пігментів є аквакультура водоростей [2, 3, 9], насамперед *Chlorella vulgaris*. Це постійно поновлюваний ресурс зі швидким накопиченням біомаси та нескладним процесом культивування. Вивчення регуляції фізіолого-біохімічних процесів життєдіяльності водорості за впливу різних чинників дає змогу більш ефективно здійснювати керований біосинтез та накопичення цінних сполук, зокрема пігментів, у аквакультурі.

**Метою** нашої роботи було вивчити вплив йонів деяких біоелементів, як регуляторів інтенсивності та спрямованості метаболізму [1, 7, 8], на накопичення хлорофілів у *Ch. vulgaris* та дослідити вплив нартій селеніту окремо і за спільної дії з йонами металів на зміни у пігментному складі водорості.

**Матеріали і методи**. Матеріалом дослідження була водорість *Chlorella vulgaris* Beij. CCAP-211/11в, яку культивували згідно загальноприйнятих гідробіологічних методик [4]. В експериментальних умовах в культуральне середовище водоростей додавали водний розчин натрій селеніту з розрахунку 0,5 мг/дм$^3$, 5,0, 10,0 та 20,0 мг $Se^{4+}$/дм$^3$ та водні розчини солей металів з розрахунку на кількість іонів: $Zn^{2+}$ – 5,0 мг/дм$^3$, $Mn^{2+}$ – 0,25 мг/дм$^3$, $Cu^{2+}$ – 0,002 мг/дм$^3$, $Fe^{3+}$ – 0,008 мг/дм$^3$, $Co^{2+}$ – 0,05 мг/дм$^3$. Контролем слугувала культура, яку вирощували у середовищі без додавання селеніту та солей металів. Біомасу живих клітин відбирали на 1, 3 та 7-му доби експерименту. Пігменти екстрагували 90% розчином ацетону і їх кількість вимірювали спектрофотометрично [4].

**Результати**. Відомо, що у клітинах водоростей в аквакультурі за дії зовнішніх чинників змінюються швидкість, а інколи і спрямованість метаболізму, а їх фотохімічна і біосинтезна активність визначаються співвідношенням хлорофілів *a*/*b*. Хлорофіл *a* входить до складу реакційних центрів та периферичних комплексів фотосистем I і II, а хлорофіл *b* – компонент світлозбірного комплексу фотосистеми II. Тому зміна їх співвідношення може свідчити про зміщення стехіометричної рівноваги між комплексами реакційних центрів обох фотосистем та світлозбірного комплексу фотосистеми II [8]. Вважають, що основними причинами зниження активності ФС II у присутності підвищених концентрацій металів є зміна структури білків реакційного центру та взаємодія іонів деяких металів з іонами, що входять до складу реакційного центру ($Mn^{2+}$, $Ca^{2+}$, $Cl^-$) [10]. Насамперед, зміни у складі пігментів пов'язані з адаптивними процесами: за стресових впливів відбувається зменшення вмісту хлорофілу *a* як менш стійкого порівняно з хлорофілом *b*, тому, відповідно, співвідношення між цими обома формами пігменту зменшується. Однак, збільшення вмісту хлорофілу *a*, а отже і збільшення показника співвідношення хлорофілів *a*/*b* порівняно з контролем є ознакою успішного формування фізіологічної адаптації хлорели [1, 7].

З'ясовано, що за дії натрій селеніту у всіх досліджуваних концентраціях вміст хлорофілів *a* і *b* збільшувався порівняно з контролем. Максимально вміст хлорофілу *a* щодо контролю (більш, ніж у 3 рази) збільшився за дії селеніту натрію у концентраціях 0,5 мг/дм$^3$ та 20,0 мг/дм$^3$ на 7-му добу дії. Щодо вмісту хлорофілу *b*, то динаміка його вмісту була аналогічна вмісту хлорофілу *a*. Слід

зазначити, що, незважаючи на збільшення загального вмісту фотосинтетичних пігментів за дії селеніту у концентрації 0,5 мг/дм$^3$, показник співвідношення хлорофілів *a*/*b* зменшився щодо контролю на 1-у добу на 24%, на 3-ю – на 28%. За концентрації 20,0 мг $Se^{4+}$/дм$^3$ показник співвідношення хлорофілів на 3-ю добу зріс на 59%, проте на 7-му добу перевищував контроль лише на 11%. За дії 10,0 мг $Se^{4+}$/дм$^3$ вміст пігментів збільшувалося, і на 7-му добу вміст хлорофілу *a* перевищував контроль на 82%, а хлорофілу *b* – на 83%. При цьому значення співвідношення хлорофілів *a*/*b* як показника потенційної біосинтетичної активності стабільно збільшувалося протягом досліджуваного періоду і на 7-му добу перевищувало контроль на 29%. За концентрації 5,0 мг $Se^{4+}$/дм$^3$ лише на 7-му добу вміст хлорофілу *a* досягнув контрольних значень, вміст хлорофілу *b* збільшився на 60%, а співвідношення хлорофілів *a*/*b* зменшилося у 1,5 рази щодо контролю.

За спільної дії селеніту натрію та іонів металів у всіх варіантах експерименту вміст зелених пігментів у хлорели зростав. Так, за дії $Se^{4+}$+$Co^{2+}$ кількість хлорофілу *a* збільшилася на 33% порівняно з контролем та була близькою до показників, зафіксованих за дії селеніту окремо. За дії $Se^{4+}$ та $Se^{4+}$+$Mn^{2+}$ ці показники збільшилися на 77% та 31% відповідно, за дії $Se^{4+}$+$Zn^{2+}$ – на 97 та 45%, за дії $Se^{4+}$+$Fe^{3+}$ – на 81 та 32%, за дії $Se^{4+}$+$Cu^{2+}$ – у 2,1 та 1,5 рази відповідно.

Вміст хлорофілу *b* зріс на 95% порівняно з контролем за дії $Se^{4+}$+$Co^{2+}$ та на 31% порівняно з дією селеніту окремо, за дії $Se^{4+}$+$Mn^{2+}$ ці показники збільшилися у 3,1 та у 2,1 раза відповідно, за дії $Se^{4+}$+$Zn^{2+}$ – у 3,8 та у 2,6 раза, за дії $Se^{4+}$+$Fe^{3+}$ – у 4,0 та у 2,7 раза, за дії $Se^{4+}$+$Cu^{2+}$ – у 4,0 та 2,6 раза відповідно. На тлі збільшення вмісту пігментів за дії селеніту натрію співвідношення хлорофілів *a*/*b* суттєво не змінилося порівняно з контролем, що свідчить про відсутність негативного впливу селеніту на фотосинтетичну систему хлорели. Проте, внесення в середовище культивування хлорели натрій селеніту спільно з $Co^{2+}$, $Mn^{2+}$, $Cu^{2+}$, $Zn^{2+}$ і $Fe^{3+}$ зумовило зменшення співвідношення хлорофілів: на 9%, 31%, 42%, 47%, 48% і 55% відповідно. Можливо, це пов'язано із тим, що в модифікованих умовах культивування, має місце перетворення «молодих» молекул хлорофілу *a* у більш стійкий хлорофіл *b* [5, 6].

**Висновки**. Отже, найбільш ефективним з досліджених регуляторів накопичення хлорофілів у аквакультурі *Ch. vulgaris* є натрій селеніт. З огляду на співвідношення хлорофілів *a*/*b* оптимальною концентрацією селеніту натрію є 10,0 мг $Se^{4+}$/дм$^3$. У випадку культивування водоростей за спільної дії із біогенними металами селеніт натрію можна застосувати як певний протектор для водоростей, підсилюючи їх стресостійкість до дії йонів металів та сприяючи накопиченню зелених пігментів.

**Література**


1. Горда А.І. Біосинтез ліпідів у *Chlorella vulgaris* Beijer. за дії $Mn^{2+}$,$Zn^{2+}$, $Cu^{2+}$ та $Pb^{2+}$ / А.І. Горда, В.В. Грубінко // Доп. Нац. акад. наук України. – 2011, № 11. – С. 137–142.
2. Золотарьова О.К. Перспективи використання мікроводоростей у біотехнології / О.К. Золотарьова, Є.І. Шнюкова, О.О. Сиваш, Н.Ф. Михайленко. – К. : Альтерпрес, 2008. – 234 с.
3. Ліщук А.В. Застосування мікроводоростей у біотехнології / А.В. Ліщук, О.А. Васильченко, А. Б. Миненко [та ін.] // Проблеми екологічної біотехнології. – 2014. – № 1. – Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/peb_2014_1_5
4. Романенко В. Д. Основы гидроэкологии / В. Д. Романенко. – К. : Генеза, 2004. – 664 с.
5. Шлык А. А. Биосинтез и состояние хлорофиллов в растении / Под ред. А. А. Шлык. – Минск : Наука и техника , 1975. – 247 с.
6. Bodnar O. I. Pigment content of *Chlorella vulgaris* Beij. under influence of sodium selenite and metals ions / O. I. Bodnar, H. B. Viniarska, O. V. Vasilenko, V. V. Grubinko // Biotechnologia Acta. – 2016. – V. 9, № 1. – P. 71–78.
7. Grubinko V. V. Structural adaptations of cell walls of *Chlorella vulgaris* Beijer. the action of ions zinc and lead / V. V. Grubinko, K. V. Kostiuk, A. I. Lutsiv // Альгология. – 2014. – Т. 24, № 3. – С. 282–287.
8. Handbook of microalgal culture: applied phycology and biotechnology / Ed. Amos Richmond, Qiang Hu. – Oxford : Wiley, Ltd., 2013. – 726 p.
9. Motilva M.-J. Chlorophylls – from functionality in food to health relevance // 5thPigments in Food congress for quality and health. – University of Helsinki, 2008.
10. Prasad M. N. V. Impact of heavy metals on photosynthesis / M. N. V. Prasad, K. Strzalka // Heavy Metal Stress in Plants. – Springer Verlag. Berlin. 1999. – P. 117–138.

**Васильева Н.Ю. , Блайда И.А., Нещерет Л.С.**
Одесский национальный университет имени И.И.Мечникова, Одесса, Украина

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНЫХ ПАРАМЕТРОВ ВЫЩЕЛАЧИВАНИЯ МЕТАЛЛОВ ИЗ ПОРОДНЫХ ОТВАЛОВ ЛЬВОВСКО-ВОЛЫНСКОГО УГОЛЬНОГО БАССЕЙНА

*The influence of some factors on the process of leaching metal from dumps and dumps of central concentrator factory of Lviv - Volyn Coal Basin is shown. The use of mathematical planning method allowed to reveal differences the influence of factors and their levels on the process, depending on the metal.The perspective of creating a focused and/or multi-stage process of metal leaching are shown*

Использование математических методов планирования эксперимента для контроля действия внешних факторов в процессе выщелачивания металлов из отходов облегчает дальнейший процесс по созданию условий для узконаправленного и/или многостадийного процесса. Данный подход позволят при минимальных затратах спроектировать подход к практически полному извлечению всех ценных металлов, содержащихся в отходах предприятий угольной и энергетической промышленности.

**Цель работы –** подобрать основные параметры для выщелачивания металлов из отвалов ЦОФ Львовско-Волынского угольного бассейна и проследить изменение значимости каждого исследованного фактора и варьирование его уровня в зависимости от металла с применением математических методов планирования эксперимента.

**Материалы и методы**. При проведении исследования был применен метод математической оптимизации с использование дисперсионного анализа, адаптированного к планам на греко-латинских квадратах с четырьмя действующими факторами на четырех уровнях [1, 2]. В качестве факторов были выбраны соотношение твердой и жидкой фаз (фактор А), меласса (фактор С) для создания первичных миксотрофных условий и чистая культура бактерий, выделенных их из этого субстрата (фактор D). Диапазоны каждого из факторов приведены в таблице 1. В качестве выщелачивающего раствора использовали среду Сильвермана-Лундгрена 9К.

Таблица 1. Диапазоны и урони для каждого фактора

| Фактор | Уровень фактора | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 |
| А соотношение фаз (субстрат: выщелачивающий раствор) | 15 : 150 | 22 : 150 | 30 : 150 | 50 : 150 |
| В – источник энергии ($FeSO_4$) | 44,0 г/л | 30,0 г/л | 15,0 г/л | 9,0 г/л |
| С – концентрация мелассы | 0,2 г/л | 1,0 г/л | 2,0 г/л | 5,0 г/л |
| D – живая культура микроорганизмов | 1,0% | 3,0% | 5,0% | 7,0% |

В качестве исходных данных для окончательных расчетов использовали результаты по показателям выщелачивания металлов, определенных на атомно-адсорбционном спектрофотометре. Наблюдение за процессом выщелачивания проводили в течение семи дней.

**Результаты и их обсуждение**. Поскольку использование атомно-адсорбцийной спектрофотометрии позволило регистрировать все металлы в растворе после завершения

опыта, мы имели возможность наблюдать разницу влияния каждого фактора на процесс. Такой подход дает нам возможность в дальнейшем регулировать с помощью взаимодействующих факторов интенсивность процесса и при необходимости «усиливать» выщелачивающую активность для конкретных металлов.

Было показано, что медь практически полностью переходит в раствор (98,0 %) уже на третьи сутки постановки эксперимента. При этом, наиболее значимыми факторами для выщелачивания меди их техногенных отходов ЦОФ Львовско-Волынского угольного бассейна, являлись соотношении фаз (58,0), миксотрофные условия (23,3) и добавление культуры (12,7). Указанные показатели являются расчетными значениями оценки силы влияния каждого фактора в соответствии с формулой Плохинского и выражались в процентах. По полученным данным процесс извлечения меди из отвалов данного типа наиболее интенсивно проходил при следующей комбинации факторов – A1B2C2D2.

Для выщелачивания цинка наиболее активной оказалась комбинация факторов A1B3C3D3. В данном случае уровни указывают на требование большего количества органики и количества добавленной культуры при меньшем содержании железа в исходном растворе (табл. 1). Расчетные показатели оценки силы влияния факторов, были сходны с показателями по меди: соотношение фаз (45,5), миксотрофные условия (19,4) и добавление культуры (6,7). Максимум извлечения регистрировали на 4-е сутки (≈20,0 %). Как и в случае с медью, добавление к нестерильному субстрату, содержащему собственную адаптированную ассоциацию микроорганизмов, возникшую в естественных условиях при хранении отвалов, чистой культуры ацидофильных тионовых бактерий (фактор D) повышало скорость процесса выщелачивания металла. По литературным данным это объясняется увеличением магнитной фракции в обработанной бактериальным раствором руде, что способствует раскрываемости железосодержащих сульфидных минералов [3].

Для процесса выщелачивания германия оптимальной оказалась комбинация факторов и их уровней A2B1C2D3. Как видно, она существенно отличается от комбинаций для других металлов. В первую очередь соотношение фаз изменено в сторону увеличения твердой фазы (A2) Во вторых, мы наблюдали требование к созданию микотрофных условий (C2D3) при максимальном количестве железа (B1). Расчет оценки силы влияния фактора показал, что максимальное значение для процесса выщелачивания германия из отвалов данного типа имеют соотношение фаз (17,9 %) и присутствие органических сахаров (22,3 %). Процент перешедшего металла в раствор составил 59,15 % на 7-е сутки эксперимента.

Таким образом было показано значимость применение метода математической оптимизации для моделирования процесса биовыщелачивания и дальнейший потенциал для усовершенствования процесса.

**Литература**

1. Ахназарова С. Л., Кафаров В. В. Методы оптимизации в химической технологии: учебное пособие для хим.-технол. спец. вузов. – 2-е изд. – М.: Высш. шк., 1985. – 327 с.
2. Батрак А.П. Планирование и организация эксперимента: Учебное пособие к изучению теоретического курса для студентов направления / А.П. Батрак – Красноярск: ИПЦ СФУ, 2010. – 60 с.
3. Wenbin N./Quorum-sensing system inAcidithiobacillus ferrooxidans involved in its resistance to $Cu^{2+}$ / N. Wenbin, Z. Dejuan, L. Feifan, Y. Lei, C. Peng, Y. Xiaoxuanand L. Hongyu// Letters in Applied Microbiology. – 2011. – № 53. – P. 84 - 91

**Васильєва Т.В., Блайда І.А., Слюсаренко Л.І., Шулякова С.М.**
Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, Одесса, Україна

## ВИКОРИСТАННЯ РІЗНИХ ГРУП БАКТЕРІЙ У БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ПРОЦЕСАХ ВИЛУГОВУВАННЯ МЕТАЛІВ

*The possibility of using two-stage sequential process of metals leaching from industrial waste of different origin using "silicate" and the bacteria are discussed. It was found that pre-treatment of substrates of the silicate bacteria association contributed to a more efficient transition metals in solution*

Техногенні відходи підприємств гірничодобувної і переробляючої промисловості мають складний мінералогічний склад, до основи якого входять аргіліти і алевроліти, містять значну кількість кремнію, який знаходиться в силоксанових зв'язках, що важко руйнуються. У техногенних відходах метали знаходяться в кристалічній решітці, що також є причиною їх утрудненого руйнування. Підвищена міцність такої мінеральної сировини вимагає значних енерговитрат для їх руйнування в процесі вторинної переробки. В даний час встановлено, що багато мікроорганізмів здатні руйнувати кристалічну решітку твердих відходів і витягувати з них метали. В процесі деструкції силікатів і алюмосилікатів беруть участь ацидофільні хемолітотрофні і гетеротрофні бактерії, гриби. Останніми роками отримані експериментальні дані по руйнуванню силікатними бактеріями кварцу, польового шпату, алюмосилікатів [Яхонтова, 2000]. Крім того, відомо, що силікатні бактерії впливають на вскриваємість природних сульфідних руд. Експериментальних даних про руйнування силікатними бактеріями кремнезему, різних груп силікатів і алюмосилікатов в техногенних відходах практично немає. Актуальність досліджень визначається необхідністю розширення сировинної бази і підвищення комплексності використання техногенної сировини різного походження.

**Мета роботи** - оцінити можливість використання силікатних і тіонових бактерій в процесі двостадійного вилуговування металів з техногенних відходів.

**Матеріали і методи дослідження**. У роботі використані техногенні відходи вугільної (відходи флотаційного збагачення вугілля на центральній збагачувальній фабриці Львівсько-Волинського вугільного басейну – ЦОФ ЛВВБ), енергетичної (зола-шлаки Добротвірській теплоелектростанції – ДТЕС) і глиноземної (відходи автоклавного вилуговування галію з нігерійських бокситів на Миколаївському глиноземному заводі - НГЗ) промисловості. Процес бактерійного вилуговування металів з досліджуваних техногенних відходів здійснювали чановим методом в два етапи із залученням силікатних і тіонових бактерій. На першій стадії для кращого розтину мінеральної сировини використовували силікатні бактерії, на другому – для ефективного переходу рідкісних і токсичних металів з твердої фази до розчину - ацидофільні хемолітотрофні тіонові бактерії. При вилуговуванні техногенних відходів силікатними бактеріями використовували селективне середовище А-27; при роботі з тіоновими бактеріями – середовище Сильвермана-Лундгрема 9К. Після закінчення другого етапу вилуговування тверду і рідку фази розділяли шляхом відстоювання, потім досліджували методами хімічного і спектрофотометрічного аналізів.

**Результати і їх обговорення**. У даному повідомленні приведені результати лабораторних експериментів послідовної дії силікатних і тіонових бактерій на техногенні відходи різного походження (рис. 1). Аналіз отриманих результатів свідчить про те, що силікатні бактерії не вносять значного вкладу до витягання металів з різної техногенної сировини. Перехід реєстрованих металів з твердої фази в розчин були незначними. Відмічено селективне

підвищення витягання міді із золи-виносів ДТЕС і порідних відвалів ЛВВБ після попередньої обробки силікатними бактеріями.

Проте в результаті проведених досліджень встановлено, що попередня обробка техногенних відходів силікатними бактеріями підвищує ефективність витягання металів в другій стадії. Мабуть асоціація силікатних бактерій призводить до зниження міцності оксиду кремній, що полегшує вихід металів з кристалічної решітки.

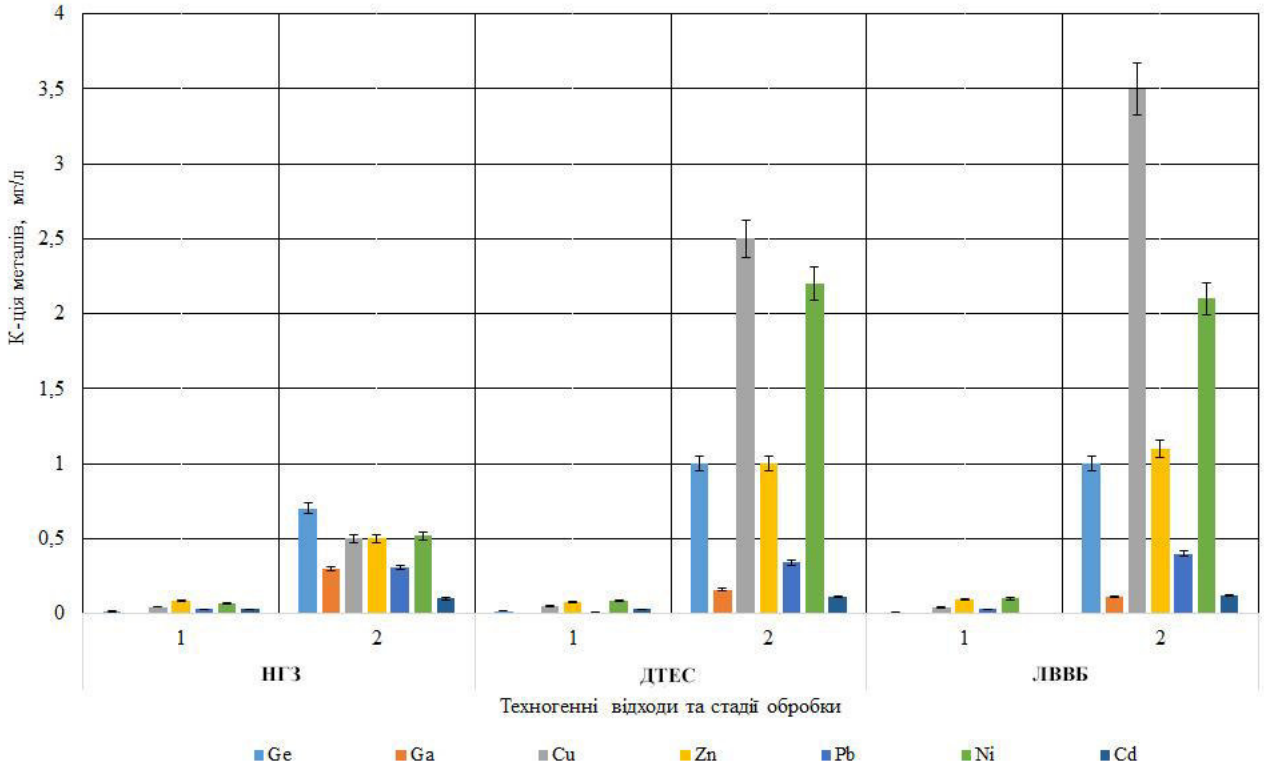



Рис. 1. Результати вилучення металів з техногенних відходів з використанням силікатних та тіонових бактерій

Примітки: - 1 обробка силікатними та 2 тіоновими бактеріями

Згідно з раніш отриманими результатами, бактерійне вилуговування металів з відходів НГЗ тільки з використанням ацидофільних хемолітотрофних бактерій було незначним. В умовах наших експериментів двостадійна обробка відходів глиноземного виробництва приводила до значного підвищення ступеню вилуговування металів.

Отримані на підставі проведених досліджень дані дозволяють розробити рекомендації, що спрямовані на вдосконалення способів отримання металів з техногенних відходів - слід розглянути можливість використання послідовної двостадійної обробки техногенних відходів силікатними і тіоновими бактеріями.

**Література:**

1. Яхонтова Л. К., Зверева В. П. Основы минералогии гипергенеза.: Учеб. Пособие: - Владивосток: Дальнаука, 2000. - 331 с.

**Великсар С. Г. , Леманова Н.Б.**
Институт генетики, физиологии и защиты растений АНМ, Кишинэу, Молдова

## ВЛИЯНИЕ КОМБИНАЦИИ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ И БАКТЕРИАЛЬНЫХ ШТАММОВ НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ЛИСТЬЕВ И РОСТ САЖЕНЦЕВ ВИНОГРАДА

*Analysis of the experimental data obtained in controlled and field conditions in the open was significantly shows that the use of bacterial products (metabolites suspensions and three strains of microorganisms) together with a half dose of microelements Microcom-B complex significantly improves the growth and development of the seedlings of grapes. This is a consequence of improving the conditions of food and metabolic processes of plants. The use of microorganisms with trace elements complex makes it possible to reduce the amount of fertilizer used and reduce the environmental burden on the environment.*

**Введение.** Многолетние культуры, в частности виноград, подвергаются действию различных стресс-факторов: нарушение баланса питательных элементов, низкие температуры в период глубокого и относительного покоя, загрязнение почвы остатками многократного применения различных пестицидов. При этом заметно ухудшается состав и количество микроорганизмов в почве. Исследования, проведенные в последние годы, показывают, что новые биотехнологии, в частности использование ростостимулирующих бактерий (**PGPB**), позволяют по-новому взглянуть на возможности регулирования питания растений в онтогенезе и их устойчивость к неблагоприятным условиям произрастания [1-4**].** Это особенно важно при выращивании здорового посадочного материала для закладки новых многолетних плантаций виноградников. Известно, что качество саженцев во многом зависит от минерального статуса почвы и растений. Использование микроорганизмов позволяет существенно улучшить питание растений, корнеобразование и, соответственно - качество саженцев. Механизмы действия PGPB на растения полностью еще не изучены, но их основной эффект связан с продуцированием биологически активных веществ и воздействием на рост растений [5-6]. В данной работе представлены результаты изучения действия суспензий и метаболитов трех штаммов сапрофитных бактерий на содержание хлорофилла в листьях саженцев винограда, фотосинтетическую активность, рост побегов и корней, что в конечном итоге определяет количество и качество полученного в питомнике посадочного материала для новых виноградных плантаций.

**Материалы и методы.** Предварительно укорененные черенки винограда (сорта Кодринский и Презентабельный) высаживали в пластиковые ведра объемом 12 кг почвы - в вегетационном комплексе и в заранее приготовленные борозды – в полевом опыте. Почва – чернозем карбонатный слабосуглинистый. Двухсуточные суспензии штаммов бактерий *Azotobacter chroococcum, Bacillus subtilis* и *Pseudomonas fluorescens*, с титром$10^7$ КОЕ/мл вносили в почву при посадке черенков в почву. Для некорневой подкормки растений в процессе вегетации использовали продукты метаболизма микроорганизмов, полученные при центрифугировании концентрированных суспензий. Растения опрыскивали трехкратно метаболитами микроорганизмов отдельно и совместно с половинной дозой специально разработанного нами для винограда комплекса микроэлементов Микроком-ВА.

Интенсивность фотосинтеза определяли с помощью портативного прибор LCI, содержание фотосинтетических пигментов - в ацетоновой вытяжке.

**Результаты исследований.** Внесение в почву суспензии микроорганизмов и некорневая подкормка растений метаболитами этих штаммов совместно с комплексом микроэлементов заметно повысили суммарное содержание хлорофилла в листьях. Применение комбинации

метаболитов трех штаммов микроорганизмов (1:1:1) в половинной дозе одновременно с 0,5 дозы комплекса микроэлементов Микроком-В способствовало повышению суммарного количества хлорофилла (*a + b)* в листьях на 118,57 % по сравнению с контрольным вариантом. Сумма хлорофилла увеличивалась главным образом за счет хлорофилла *b.* Соотношение форм *a* и *b* изменялось по вариантам опытов в пределах 2,01-2,09. Количество каротиноидов, как правило, было на уровне контрольного варианта или ниже его.

Отмечено увеличение интенсивности транспирации, особенно при внесении в почву суспензии *Ps. fluorescens + Az. chroococcum* а также при некорневой подкормке растений суспензией или метаболитами этих штаммов с добавлением микроэлементов. В этих же вариантах отмечена более высокая устьичная проводимость, самая низкая - в контрольном варианте. Интенсивность фотосинтеза листьев саженцев в сосудах составила в контрольном варианте 6,89±2,31, а в вариантах с применением суспензии или метаболитов бактерий и комплекса микроэлементов она варьировала в пределах 7,71±0,52 - 9,29±2,57 Mmol/$m^2$/sec.

Анализ основных показателей качества саженцев при их выкопке показывает, что во всех вариантах с применением микроорганизмов и микроэлементов вес и общая длина корней, рост и вызревание однолетних побегов были выше по сравнению с контрольными растениями. Совместное использование сниженных доз комплекса микроэлементов и метаболитов микроорганизмов в наибольшей степени стимулировано рост и развитие корневой системы (186.26 % по сравнению с растениями контрольного варианта). Важно также то, что на этих саженцах более интенсивно развиваются мелкие питающие корни. Надземная часть саженцев во всех вариантах, где были использованы корневые и некорневые подкормки, была развита лучше, чем в контрольном варианте. Наибольший прирост побегов отмечен при некорневой подкормке растений метаболитами микроорганизмов отдельно и совместно с микроэлементами.

**Выводы.**

1. Установлена возможность совместного применения суспензии или метаболитов сапрофитных микроорганизмов и комплекса микроэлементов для улучшения роста и развития корней и побегов саженцев винограда, что очень важно для повышения количества и качества посадочного материала.

2. Использование метаболитов микроорганизмов дает возможность в два раза снизить суммарное количество микроэлементов в комплексе Микроком В при выращивании саженцев, что снижает возможное загрязнение окружающей среды за счет уменьшения количества применяемых химических удобрений.

**Литература:**

1. Ананьева Н.Д. Микробиологические аспекты самоочищения и устойчивости почв / Отв. ред. Д.Г. Звягинцев. М.: Наука, 2003.-323 с.
2. Великсар С.Г. Леманова Н. Б., Тома, С.И., Давид Т.В. Эффективность использования микроэлементов совместно с метаболитами ростстимулирующих бактерий в питомниководстве. Агрохимия, 2016, № 2, с. 71–79
3. 3. Меренюк Г.В. Деградация почв, вовлеченных в сельскохозяйственный оборот, решение проблемы с микробиологических позиций //Probleme actuale de microbiologie si biotehnologie. Chisinau, 2009. P. 25–78.
4. 4 Болдырев М.И. Защита растений в условиях стресса // Защита и карантин растений. 2008. № 5. С. 18–20.
5. Боронин А.М., Кочетков В.В. Биологические препараты на основе псевдомонад // Агро XXI. 2000.№ 3. С. 20–21.
6. Леманова, Н.Б., Великсар, С. Г. Подбор комбинаций штаммов бактерий для создания биопрепаратов. Материалы Международной Научно-практической конференции «Клеточная биология и биотехнология растений». 2013, Минск, с.172.

**Вінніков А.І., Воронкова О.С., Дрегваль О.А., Черевач Н.В.**
Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара, Дніпро, Україна

## ХАРАКТЕРИСТИКА АКТИВНОСТІ КОМПЛЕКСНОГО ІНСЕКТИЦИДНОГО ПРЕПАРАТУ НА ОСНОВІ *BACILLUS THURINGIENSIS* І *BEAUVERIA BASSIANA*

*The complex bacterial preparation "Baktofungin-LS» based on bacteria Bacillus thuringiensis IMB-7186 and fungus Beauveria bassiana IMB-F-100 043 which showed high effectiveness against the order Lepidoptera (colorado potato beetle, tobacco thrips and spider mites) and caused the death of more than 77,3 % of animal unit has been developed. For these microorganisms was shown possibility of co-culture which significantly simplifies and reduces the cost of technology to produce of complex biopreparation*

Найбільш перспективним вважається використання мікробних препаратів на основі ентомопатогенних мікроорганізмів – природних паразитів шкідливих комах. Такі препарати характеризуються високою специфічністю інсектицидної дії, безпечністю для рослин, корисних комах, риб, теплокровних тварин та людини (Кандыбин Н.В. и соавт., 2009, Патыка Т.И. и соавт., 2009).

Метою роботи була характеристика ефективності комплексного препарату на основі ентомопатогенних мікроорганізмів *Bacillus thuringiensis var. thuringiensis* IMB-7186 і гриба *Beauveria bassiana* IMB-F-100 043.

У роботі використовували штами ентомопатогенних бактерій та грибів, які були виділені із 170 загиблих колорадських жуків. Ідентифікацію виділених бактерій проводили за порівняння їх властивостей з властивостями бактерій, наведеними у визначнику Бергі (HoltJ.G.et all., 1994) та згідно схеми О. Lysenco (Кандыбин Н.В. и др., 2009). Ідентифікацію виділених грибів проводили згідно з «Визначником ентомофільних грибів» (Коваль Э.З., 1974). Інсектицидну активність ентомопатогенних мікроорганізмів визначали в лабораторних умовах при зараженні личинок колорадського жука (*Leptinotarsa decemlineata*) і листокрутки всеїдної (*Archips podana*). Дозу спор, яка викликає 50% загибель ($LK_{50}$) визначали за методом Спірмена-Кербера (Лотар З., 1976). У випадку загибелі комах у контролі для розрахунку частки загиблих комах використовували формулу Аббота (Король И.Т., 1993). Для оцінки достовірності відмінностей вибірок, що порівнювалися, визначали t-критерій Стьюдента при 5% рівні значимості.

За сумісного інфікування штамами *Bacillus thuringiensis var. thuringiensis* IMB-7186 і гриба *Beauveria bassiana* IMB-F-100 043 личинок листокрутки всеїдної, американського білого метелика та горностаєвої плодової молі відмічено їх інгібуючий вплив на комах (табл. 1).

Таблиця 1. Комплексна дія *B. thuringiensis* IMB-7186 і *B. bassiana* IMB-F-100 043 проти різних комах-шкідників

| Ентомопатогени | Загибель личинок, % | | | |
|---|---|---|---|---|
| | *Leptinotarsa decemlineata* на 7 добу | *Hyphantria cunea* на 10 добу | *Archips podana* на 4 добу | *Hyponomeuta padellus* на 6 добу |
| *B. thuringiensis* IMB-7186 | 66,6 ±2,1* | 40,0 ±2,7* | 92,0 ± 1,3 | 92,8± 2,7 |
| *B. bassiana* IMB-F-100 043 | 64,0 ± 1,6* | 67,0 ± 3,4 | 68,0 ± 3,3* | 26,4 ± 2,0* |
| Комплекс *B. thuringiensis* IMB-7186 та *B. bassiana* IMB-F-100 043 | 77,3 ±1,6 | 69,0 ± 2,9 | 93,3 ± 2,1 | 93,6 ± 2,7 |
| Контрольні комахи | 5,3 ± 1,3 | 7,0± 2,0 | 6,7 ± 2,1 | 7,2 ± 1,5 |

Американський білий метелик був більш чутливим до *B. bassiana*, а листокрутка всеїдна та горностаєва плодова міль – до *B. thuringiensis*. Бактеріально-грибний комплекс призводив до отримання такого ж результату, що і при зараженні більш сильним із двох патогенів.

У той же час смертність личинок колорадського жука за сумісної дії патогенів (77,3 %) перевищувала смертність, отриману за обробки кожним із компонентів комплексу (66,6 та 64,0 % для *B. thuringiensis*та *B. bassiana*, відповідно).

У мікровегетаційних дослідах штам *B. thuringiensis* виявив більшу ефективність до павутинного кліща, а *B. bassiana* – до тютюнового трипсу. Сумісні зараження мали таку ж ефективність, як і застосування більш сильного з двох патогенних мікроорганізмів (табл. 2).

Таблиця 2. Комплексна дія *B. thuringiensis* IMB-7186 та *B. bassiana* IMB-F-100 043 проти шкідників захищеного ґрунту

| Ентомопатогени | Смертність, % | |
|---|---|---|
| | *Tetranichus urticae* | *Thrips tabaci* |
| *B. thuringiensisIMB-7186* | 91,2 ±1,0 | 40,0 ± 1,9 |
| *B. bassiana IMB-F-100 043* | 70,7 ± 1,6* | 71,1 ± 2,2 |
| Комплекс *B. thuringiensis IMB-7186* та *B. bassianaIMB-F-100 043* | 90,2 ± 1,8 | 72,2 ± 4,0 |

Можна констатувати, що суміш мікроорганізмів була високоефективною до шести видів шкідників, тоді як *B. thuringiensis* виявив найбільшу ефективність до трьох видів, а *B. bassiana* – до двох.

Таким чином, сумісне застосування *B. thuringiensis* IMB-7186 і *B. bassiana* IMB-F-100 043 дозволяє розширити спектр ефективної дії за рахунок поєднання декількох ентомоцидних факторів цих патогенів, що дає підставу для їх використання як основи комплексного інсектицидного препарату.

**Література:**

1. Кандыбин Н.В. Микробиоконтроль численности насекомых и его доминанта *Bacillus thuringiensis*/Н.В. Кандыбин, Т.И. Патыка, В.П. Ермолова, В.Ф. Патыка//С-П.б., Пушкин: ООО Инновационный центр защиты растений. 2009. – 244 С.
2. Коваль Э.З. Определитель энтомофильных грибов СССР/Э.З.Коваль. – К.: Наукова думка, 1974. – 260 с.
3. Король И.Т. Микробиологическая защита растений / И.Т. Король. – М: Колос, 1993. – 79 с.
4. Патыка Т.И. Филогенетические взаимосвязи серологических вариантов *Bacillus thuringiensis* /Т.И.Патыка, Н.В.Патыка, В.Ф.Патыка // Біополімери і клітина. – 2009. – Т. 25, № 3. – С. 240-244.

**Sergey Gaydamaka, Valentina Murygina, Marina Gladchenko**
Dept. of Chemical Enzymology, Chemistry Faculty, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

**Гайдамака С.Н., Мурыгина В.П., Гладченко М.А.**
Химический факультет Московского Государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

## SOFTENING OF THE BITUMINOUS CRUST DURING BIOREMEDIATION OF THE RAISED BOG WITH OLD OIL POLLUTION. BENCH TESTS.

## РАЗМЯГЧЕНИЕ БИТУМИНОЗНОЙ КОРКИ В ПРОЦЕССЕ БИОРЕМЕДИАЦИИ ВЕРХОВОГО БОЛОТА С ЗАСТАРЕЛЫМ НЕФТЯНЫМ ЗАГРЯЗНЕНИЕМ. ЛАБОРАТОРНЫЕ ИСПЫТАНИЯ

*Possibility of preprocessing of the solid bituminous crust from a surface of a raised bog with old oil pollution was investigated with using chemical reagents in concentration, harmless for flora and fauna, before carrying out the bioremediation. The bacterial oil-degrading preparation Rhoder was applied for bioremediation. According to the gas-chromatographic (GC) analysis the use of reagents in moderate concentration to soft the bituminous crust and then the Rhoder, it was observed transformation of hydrocarbons (HC) in the high layer of the crust (increase of heights and areas of HC peaks) and degradation of HC by 48,2% in case of application 2% of $Ca(OH)_2$ solution in a moss sublayer. Depression and death of a microflora in the experiment did not observe.*

*Исследовали возможность предобработки твердой битуминозной корки, снятой с поверхности верхового болота с застарелым нефтяным загрязнением, химическими реагентами в неопасных для флоры и фауны концентрациях перед проведением биоремедиации. Для биоремедиации применяли бактериальный препарат-нефтедеструкор Родер. По данным газохроматографического (ГХ) анализа в результате применения реагентов в умеренных концентрациях для размягчения битуминозной корки и затем препарата Родер, наблюдали трансформацию углеводородов (УВ) нефти в верхнем слое битуминозной корки (увеличение высоты и площади пиков нефтепродуктов) и деградацию нефти до 48,2% в случае применения 2% раствора $Ca(OH)_2$ в нижнем слое торфа. Угнетения и гибели микрофлоры в эксперименте не наблюдали.*

**Введение.** В настоящее время биоаугментация является сравнительно недорогим и эффективным способом восстановления нефтезагрязненных грунтов и водной поверхности [1]. Однако применение бактериальных препаратов-деструкторов нефти для биоремедиации застарелых загрязнений, где на поверхности образовалась твердая битуминозная корка, без её разрушения, малоэффективно [2]. Для топких верховых болот удаление битуминозного слоя технически трудноосуществимо. В связи с этим, выглядит перспективым применение реагентов, способных размягчить корку без механического воздействия на неё.

**Цель.** Подобрать наиболее эффективный реагент-деструктор битуминозной корки для последующего проведения биоремедиации верхового болота, загрязненного нефтью.

**Материалы и методы.** Эксперименты проводили в емкостях (110мм х 120мм), которые заполняли торфом, загрязненным нефтью (900 г по весу), а битуминозную корку толщиной 15 мм помещали сверху. Торфянистая почва и битуминозная корка были отобраны с 20-летнего нефтяного загрязнения в районе кустовой площадки № 196 Ватинского месторождения (г. Мегион, Западная Сибирь). Для размягчения корки применяли несколько реагентов (перекись водорода, гидроксид кальция и щелочной гидролизат отходов растениеводства) в концентрациях от 2% до 20%, которые вносили 3-5 раз через каждые 3-4 дня. Удобрения (74 мг/кг а.с.п. по N и 48 мг/кг а.с.п. по P) и препарат-нефтедеструктор Родер

($10^6$ УВО кл/мл, 30 мл) были нанесены на поверхность размягченных корок 3 раза после завершения добавок реагентов. Торф с коркой в контрольной емкости поливали только дистиллированной водой.

**Результаты.** Визуально наблюдали размягчение битуминозной корки. По результатам химического анализа 5-7 %об. нефтепродуктов переместилось из слоя 0-2 см в слой 2-11 см. При этом высокие концентрации примененных реагентов размягчали не только битуминозную корку, но и экстрагировали из торфа биогенные вещества (рис.1).

Микробиологические исследования показали, что реагенты не оказывают токсичного действия на микрофлору торфа и препарат (табл. 1). pH исходного торфа - кислый, а торфа, обработанного химическими реагентами и бактериальным препаратом, близок к нейтральным значениям, при этом микроорганизмы, присутсвующие в торфе, активно потребляют биогенные вещества (табл. 1).

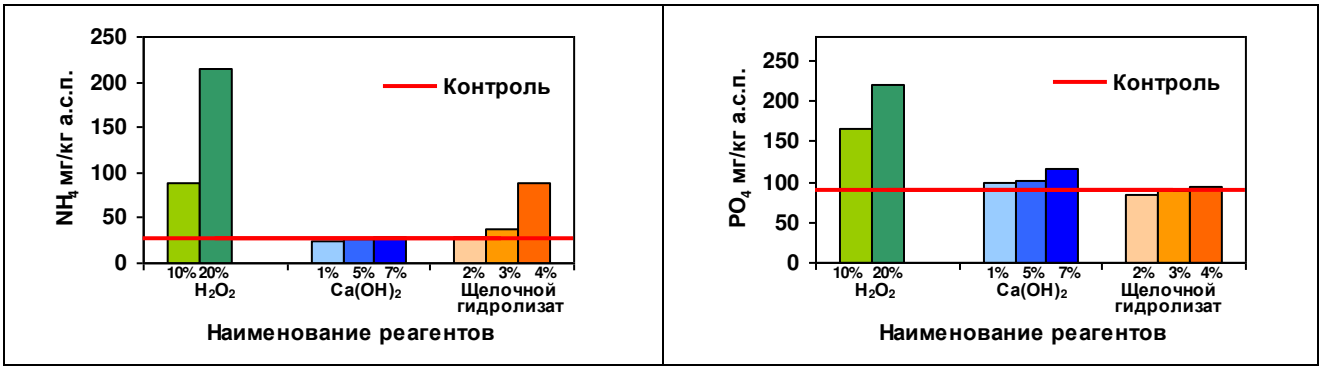



**Рис. 1.** Результаты действия реагентов на экстракцию биогенных элементов из торфа

**Таблица 1.** Микробиологическая и агрохимическая характеристика торфа с битуминозной коркой до и после проведения эксперимента

| Реагент концентрация | pH | ОЧМ, КОЕ/г вл. почвы | УВО, кл/г вл. почвы | N мг/кг а.с.п. до/после эксперимента | P мг/кг а.с.п. до/после эксперимента | Эффек-ть потреб. N/P, % |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Контроль | 4,35 | $3,9*10^4$ | $0,9*10^4$ | 21,0 | 29,0 | - |
| $H_2O_2$ 10% | 6,97 | $1,0*10^9$ | $7,2*10^9$ | 69,0/42,2 | 54,5/56,8 | 85/71 |
| $H_2O_2$ 20% | 6,54 | $6,4*10^8$ | $6,8*10^7$ | 167,4/104,1 | 72,2/46,1 | 73/79 |
| $Ca(OH)_2$ 2% | 6,68 | $6,1*10^9$ | $3,2*10^8$ | 19,5/29,6 | 32,4/43,5 | 88/75 |
| $Ca(OH)_2$ 5% | 6,70 | $1,1*10^9$ | $9,4*10^7$ | 20,2/29,9 | 33,3/47,0 | 88/73 |
| $Ca(OH)_2$ 7% | 7,06 | $6,7*10^8$ | $6,7*10^6$ | 21,5/29,8 | 38,0/57,0 | 88/69 |
| Щелочной гидр-т 2% | 6,03 | $9,0*10^9$ | $8,7*10^8$ | 21,5/74,4 | 27,7/48,3 | 69/72 |
| Щелочной гидр-т 3% | 6,31 | $9,5*10^9$ | $7,4*10^8$ | 29,8/55,5 | 29,4/47,1 | 78/73 |
| Щелочной гидр-т 4% | 6,68 | $4,7*10^9$ | $2,1*10^8$ | 68,1/52,3 | 31,0/43,2 | 82/75 |

По данным ГХ анализа УВ битуминозной корки и торфа (табл. 2), отмечается трансформация УВ в верхнем слое (увеличение высоты и площади пиков нефтепродуктов) и снижение углеводородного загрязнения в толще торфа, куда ранее, из-за битуминозной корки был затруднен доступ микроорганизмов препарата «Родер».

**Таблица 2.** Наиболее характерные ГХ анализы проб почв из емкостей

| Реагент конц. | Кол-во пиков | Высота пиков, мв | Площадь пиков, мв*мин | Уменьшен площади пиков,% |
|---|---|---|---|---|
| Глубина отбора проб 0-2 см | | | | |
| Контроль | 19 | 54,440 | 2,6365 | 0 |
| Щелочной гидр-т 2% | 17 | 49,507 | 2,2294 | 15,4* |
| $Ca(OH)_2$ 2% | 16 | 116,228 | 5,2683 | -* |
| Глубина отбора проб 2-11 см | | | | |
| Контроль | 18 | 195,629 | 9,7683 | 0 |
| Щелочной гидр-т 2% | 19 | 135,283 | 5,9430 | 39,2 |
| $Ca(OH)_2$ 2% | 17 | 111,862 | 5,0598 | 48,2 |

** - наблюдается трансформация УВ в верхнем слое торфа под действием реагентов*

**Выводы.** Наилучшие результаты по размягчению битуминозной корки были получены после применения 2% раствора $Ca(OH)_2$. Концентрация нефтепродуктов после применения препарата Родер в торфянистой почве с размягченной битуминозной коркой была снижена на 48,2%, по сравнению с начальной концентрацией.

**Литература**

1. A. Singh, N. Parmar, R. C. Kuhad Bioaugmentation, Biostimulation and Biocontrol. Book Soil Biology. Springer Berlin Heidelberg. V. 108. 2011. 364 p.
2. S.N. Gaydamaka, V.P. Murygina, M.A. Gladchenko, A.A. Zubaydullin Anaerobic-aerobic method of bioremediation of a bog with old oil pollution in Western Siberia (a pilot test) // Third International Symposium on Bioremediation and Sustainable Environmental Technologies. Miami. Florida. 2015. CD(1)

**Гейсун А.А., Степченко Л.М.**
Дніпропетровський державний аграрно-економічний університет, Україна

## ВПЛИВ ГУМІЛІДУ НА НАКОПИЧЕННЯ БІОМАСИ ВЕРМИКУЛЬТУРИ

## *THE INFLUENCE OF HUMILID ON THE ACCUMULATION OF BIOMASS VERMICULTURE*

*The article contains results the use of biologically active food additive "Humilid" in vermytehnology. The perspective is finding new ways to increase efficiency vermyculture for biotechnological use. Purpose of work - investigate the patterns of influence Humilidu a part of nutrient substrate to increasing biomass hybrid red Californian worm. Biologically active additives humic origin "Humilid" of 15 mg/kg nutrient substrate actively promoted growth vermyculture that manifested in increasing biomass.*

*У статті наведені результати застосування біологічно активної кормової добавки «Гумілід» у вермитехнології. Перспективним являється пошук нових способів підвищення ефективності вермикультури для біотехнологічного використання. Мета роботи – дослідити закономірності впливу Гумілідуу складі поживного субстрату на нарощування біомаси гібриду червоного каліфорнійського. Біологічна активна добавка гумінового походження «Гумілід» у кількості 15 мг/кг поживного субстрату сприяла активному росту вермикультури, що проявилась у нарощуванні біомаси.*

У біотехнологічному виробництві найчастіше використовують вермикультуру *Eisenia fetida,* яка розповсюджена по всьому світу, активна у широкому діапазоні температур та вологості. Вважають, що даний гібрид швидко пристосовується до нового субстрату та має високу продуктивність при отриманні біогумусу. Перспективним являється пошук нових способів підвищення ефективності вермикультури для біотехнологічного використання, яка з одного боку залежить від росту, розвитку та репродуктивних якостей гібриду червоного каліфорнійського черв'яка. З іншого боку – від створення вермикультурою біологічно активного органічного добрива - біогумусу, основним компонентом якого є гумінові речовини, які можуть бути водорозчинними та у вигляді стабільних агрегатів.

Відомо, що підвищення ефективності використання вермикультури *E.fetida* у біотехнологічному процесі можливо досягти шляхом збільшення накопичення біомаси особинами або підвищенням репродуктивної функції при застосуванні біологічно активних речовин синтетичного та природного походження [1, 2].

У літературі недостатньо представлені дані щодо впливу препаратів гумінової природи різного походження на ріст, розвиток та репродуктивну функцію дощових черв'яків.

Біологічно активна добавка гумінової природи «Гумілід» [ТУ У 15.7-00493675-004:2009] відома своїми регуляторними та адаптогенними властивостями, активно застосовується у тваринництві та птахівництві [3, 4]. Для отримання Гумілідуикористовують екологічно чистий торф з повною відсутністю токсичності [5]. Проте вплив Гумілідуна ріст та накопичення біомаси гібриду червоного каліфорнійського черв'яка не досліджувався. Мета роботи – дослідити закономірності впливу Гумілідуу складі поживного субстрату на нарощування біомаси гібриду червоного каліфорнійського.

Дослідження проводили в умовах вермиферми ООО «Природные биотехнологии» м.Запоріжжя, яка є виробником біогумусу, рідкого гумінового препарату та біомаси вермикультури РМГ. Об'єктом дослідження був гібрид червоного каліфорнійського черв’яка. Поживним субстратом слугувала суміш з ферментованого гною ВРХ та ферментованого соняшникового лушпиння (відхід грибного виробництва) у співвідношенні 9:1. Для дослідження були сформовані бурти, які заселяли вермикультурою у кількості в середньому 5-7 тис./м$^2$. Надалі свіжий субстрат шаром 7-10 см розподіляли по всій поверхні бурта 1 раз

на 7-10 днів та зволожували водою. Вермикультивування проводили при температурі +20...+25 $^0$С та вологості субстрату 65-75 %. Були виділені контрольні та дослідні бурти, які відрізнялися тим, що у дослідні вносили біологічно активну кормову добавку «Гумілід» у кількості 15 мг/кг у вигляді розчину 1 раз на місяць, а у контрольні - тотожній об'єм води. Вермикультивування тривало упродовж 7 місяців. Точкові проби вермикультури відбирали з контрольних та дослідних буртів 1 раз у 45 днів упродовж всього періоду вермикультивування.

Результати проведених досліджень показали (рис. 1), що застосовування біологічно активної кормової добавки «Гумілід» у кількості 15 мг/кг у складі поживного субстрату в процесі вермикультивування сприяло росту та розвитку вермикультури, активації репродуктивної функції, що проявляється у збільшенні кількості особин вермикультури та як наслідок, нарощування біомаси.

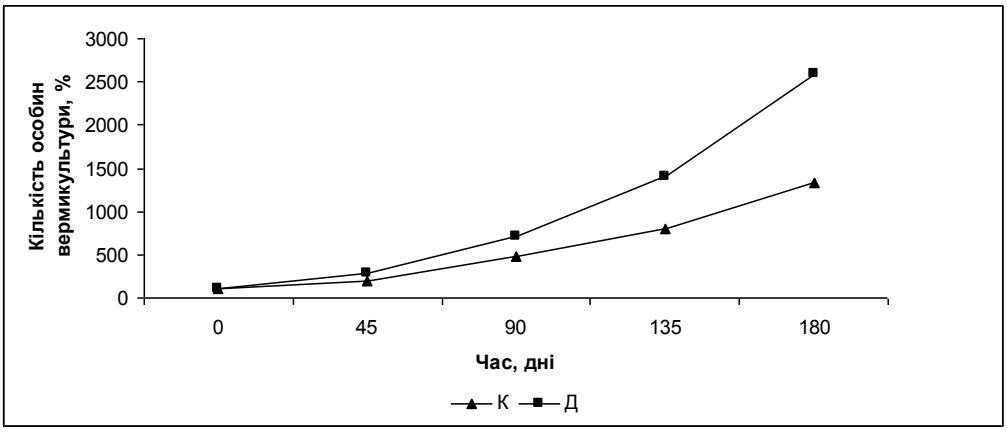



Рисунок 1. Динаміка розвитку вермикультури

Так, на 45 та 90 день вермикультивування кількість особин дослідної групи зросла в середньому на 43 % та 52 % відповідно відносно контролю. Гумінова добавка позитивно вплинула на розвиток вермикультури на 135 та 180 день дослідження, що характеризується збільшенням кількості особин червоного каліфорнійського черв'яка в середньому на 75,0 та 94,0 % відповідно у порівнянні з контрольною групою. Таким чином, біологічна активна кормова добавка гумінового походження «Гумілід» у кількості 15 мг/кг поживного субстрату сприяє активному росту вермикультури, що проявляється у нарощуванні біомаси.

**Список літератури**

1. Засіб для збільшення репродуктивності черв'яків та спосіб його одержання. Деклараційний патент України на корисну модель МПК 7 C07D 213/89, C07C 55/06, A01K 67/06 [Текст] / Шикула М. К., Дульнєв П. Г., Фантух В. С. – № 54507; заявл. 12.11.1999; опубл. 17.03.2003, Бюл. № 3.
2. Вовкогон, А. Г. Вплив різних джерел та доз йоду на нарощування біомаси гібрида червоних каліфорнійських черв'яків [Текст] / А. Г. Вовкогон, С. В. Мерзлов // Науковий вісник НУБІП України. Серія: Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва. – 2014. – № 202. – С. 286– 291.
3. Коляда, С. Г. Динаміка загальної протеолітичної активності у різних локаціях травного каналу страусенят за дії гумуліду [Текст] / С. Г. Коляда, Л. М. Степченко // Біологія тварин. – 2014. – Т.16, № 3. – С. 53–59.
4. Швецова, О. М. Вплив біологічно активної кормової добавки «Гумілід» на фізіологічний статус та продуктивні якості свиноматок [Текст] / О. М. Швецова, Л. М. Степченко // Науково-технічний бюлетень НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК . – 2014. – Т.2, №1. – С. 87–92.
5. Степченко, Л. М., Седых, Н. И., Ефимов В. Г. (2009). Оценка торфа как сырья для получения кормовых добавок. Проблемы изучения и использования торфяных ресурсов Сибири : Материалы Международной заочной научно-практической конференции. Томск (Россия), 41– 44.

**Глушень Е.М., Нагорный Р.К., Степанян Р.А.**
Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

## БИООЧИСТКА ПРОМЫШЛЕННОГО ВЕНТВОЗДУХА ОТ ВРЕДНЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

*It is shown that the absorption-biochemical method is highly effective method of purifying air from most industrial toxic organic substances - phenol, formaldehyde, methanol, triethylamine, volatile organic compounds and can advantageously replace any of the other, most of known methods..*

**Введение.** Загрязнение атмосферы ксенобиотиками, является одной из основных экологических проблем современности. Наиболее эффективной и безопасной для окружающей среды признана технология биоочистки производственного воздуха, которая сочетает в себе преимущества самого широко используемого приема – абсорбционной очистки вентвоздуха и микробной деструкции загрязняющих веществ. Загрязнители воздуха улавливаются и фиксируются в растворе (абсорбенте), а затем минерализуются до углекислого газа и воды в биореакторах с помощью специализированных микроорганизмов-деструкторов. Институтом микробиологии НАН Беларуси совместно с УП «Промышленные экологические системы» разработана технология предотвращения выбросов в атмосферу различных органических загрязнителей, основанная на функционировании абсорбционно-биохимических установок (АБХУ).

**Целью работы** являлась оценка эффективности применения микроорганизмов-деструкторов токсичных органических соединений для очистки водных абсорбентов, образующихся в АБХУ.

**Материалы и методы.** Содержание ксенобиотиков в растворе определяли на жидкостном хроматографе Agilent 1200 с масс-детектором Agilent 6410 Triple Quad.

**Результаты и выводы.**

Очистка промышленного вентвоздуха от органических соединений с помощью АБХУ осуществляется в настоящее время на 45 предприятиях Беларуси, России и Украины в том числе таких гигантах, как ОАО «МАЗ», «Автозавод ГАЗ», ОАО «АЗ «УРАЛ», ОАО «КАМАЗ-металлургия», АО «Автодизель», ООО «Лебедянский машиностроительный завод», ОАО «Завод тяжёлого машиностроения» (Мариуполь), ООО «АДМ» (Киев), ОАО «Ровенский литейный завод», ОАО «Белорусский металлургический завод», ОАО «Гродно Азот», ПТК «Гроднохимволокно», ООО «Оскольский завод нефтяного машиностроения», ЗАО «Термотрон-завод», ОАО «АЛНАС» и т.д.

Эффективность абсорбции токсикантов из воздуха рабочей зоны составляет от 70,0 до 99,9 % в зависимости от входных концентраций и физико-химических свойств веществ. Образовавшийся в результате абсорбции раствор направляется в биореактор, содержащий волокнистый носитель, на котором иммобилизованы высокоактивные микроорганизмы-деструкторы.

Специалистами Института микробиологии НАН Беларуси выделены активные штаммы микроорганизмов-деструкторов, способных к использованию в качестве единственного источника углерода и энергии таких ксенобиотиков как фенол, формальдегид, триэтиламин, диэтиламин, ксилол, толуол, стирол и т.д. Данные штаммы обладают высоким деструктивным потенциалом по отношению к токсикантам. Эффективность очистки составляет от 80 до 100% в зависимости от концентрации ксенобиотика.

Наиболее показательным является утилизация микроорганизмами таких соединений как формальдегид, триэтиламин (ТЭА) и диметиламин (ДМЭА). Так полная деструкция формальдегида в концентрации 100 и 300 мг/л препаратом на основе микроорганизмов рода

*Rhodococcus* осуществлялась за 8 и 24 часа, соответственно, а полная регенерация абсорбента с концентрацией токсиканта 1000 мг/л осуществлялась за 5 суток. Активные деструкторы ТЭА и ДМЭА *Rhodococcus qingshengii* НСТ-32 и *Rhodococcus jialingiae* НСТ-91 способны утилизировать токсиканты в концентрации 10 г/л. Препарат на основе данных штаммов утилизирует триэтиламин в концентрации 100, 500 и 1000 мг/л за 4, 11 и 18 часов соответственно, а диметилэтиламин в концентрации 100, 500 и 1000 мг/л за 8, 24 и 30 часов соответственно.

Примером эффективности биотехнологического метода очистки вентвоздуха от таких вредных органических соединений как фенол и формальдегид является работа абсорбционно-биохимических установок на ЗАО «Череповецкий фанерно-мебельный комбинат», ОАО «Витебскдрев», ОАО «Борисовдрев». Исследования абсорбционных растворов действующих биореактров показали высокую скорость микробной деструкции токсикантов в концентрации 5-40 мг/л абсорбента и степень очистки 85-95 %. Эффективность удаления ТЭА из воздуха рабочей зоны машиностроительных предприятий достигает 97 %.

Опыт использования установок показывает их значительное превосходство над традиционными скрубберами по экономическим и эксплуатационным показателям [1, 2]. Как показала практика, абсорбционно-биохимический метод с успехом нашел широкое применение в очистке вентвоздуха от наиболее токсических органических веществ – фенола, формальдегида, метанола, триэтиламина, ЛОС, спиртов и других органических веществ.

**Литература**

1. Шаповалов Ю.П. Очистка вентиляционного воздуха – прогрессивный выбор // Металл-Инфо. – 2007. – №4. – С. 20–21
2. Глушень Е.М., Шапавалов Ю.П., Грошев И.М. Опыт внедрения абсорбционно-биохимических установок для очистки вентвыбосов от формальдегида на предприятиях деревообработки // 19-я Междунар. научно-практич. конф., 16-17 марта 2016 г., г.Балабаново, РФ / под ред. Е.П. Гнутановой, 2016 – С.90-99.

**Глушень Е.М., Петрова Г.М., Шакун Т.П.**
Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

## БИОСОРБЦИОННЫЙ ПРЕПАРАТ РОДОБЕЛ-ТН ДЛЯ РЕКУЛЬТИВАЦИИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ТЕРРИТОРИЙ БЕЛАРУСИ

*RODOBEL-TH preparation created by microorganisms-destructors of oil genus Rhodococcus and Bacillus. Active microorganisms were immobilized on natural media - peat. Peat combines the properties of oil sorbent, carrier for microbial degraders of for microorganisms-destructors of hydrocarbons hydrocarbons and agent remediating petroleum-contaminated soil. In production testing of the drug of Gomel pumping station, Druzhba international pipeline polluted oil demonstrated 90% decomposition after 1 month of exposure.*

**Введение.** На сегодняшний день мировая практика располагает огромным количеством разнообразных биопрепаратов для очистки и рекультивации загрязненных нефтью объектов. С 90-х гг. прошлого столетия в Институте микробиологии Национальной академии наук Беларуси были начаты разработки отечественных способов биологического окисления нефти и нефтепродуктов с использованием микроорганизмов-деструкторов. Сотрудниками Института разработана базовая технология проведения работ по очистке загрязненных нефтью и нефтепродуктами объектов, основой которой является детальное изучение степени и условий загрязнений. В результате научно-исследовательских работ был создан ряд биопрепаратов для очистки почв, грунтов и водоемов от нефтяных загрязнений: Экобел, Родобел, Родобел-Т, Родобел-ТН.

**Цель работы** - оценка эффективности применения биосорбционного препарата РОДОБЕЛ-ТН для рекультивации нефтезагрязненных терррриторий Беларуси.

**Материалы и методы.**

Содержание нефтепродуктов в почвенных образцов проводили методом ИК-спектроскопии на анализаторе нефтепродуктов АН-2.

**Результаты и выводы.**

Препарат РОДОБЕЛ-ТН представляет собой биомассу микроорганизмов-деструкторов углеводородов нефти рода *Bacillus* и *Rhodococcus*, иммобилизованных на торфев количестве. Содержание микроорганизмов в 1 г препарата не менее $10^9$ КОЕ. Микроорганизмы, входящие в состав препарата, способны разлагать в широком температурном и pH диапазоне практически все углеводороды нефти до экологически нейтральных продуктов. Препарат адаптирован к средам с соленостью до 120 г/л.

РОДОБЕЛ-ТН сочетает в себе свойства:

1) сорбента нефти;

2) деструктора нефти;

3) рекультиватора очищаемой почвы за счет обогащения её гуминовыми кислотами торфа и органическим веществом биомассы микроорганизмов-деструкторов.

Емкость поглощения нефтепродуктов препаратом составляет 3,5 – 9,6 кг/кг в зависимости от вида нефтепродукта. Доза внесения препарата 350 кг препарата на 1000 кг нефти. Степень деградации алифатических компонентов нефти за 5 месяцев - 100% при уровне загрязнения до 5%(об.), ароматических - 95%. При уровнях загрязнения от 5% и выше срок деструкции и расход препарата, соответственно, увеличиваются.

Температурный оптимум активного действия биопрепаратов находится в пределах 15 – $32^0$C. Температурные пределы активного действия препарата РОДОБЕЛ-ТН значительно расширены и находятся в интервале от 5 до $45^0$C за счет иммобилизации микроорганизмов-деструкторов нефти на торфе. Известно, что торф, в связи с присущей ему низкой

теплопроводностью, обладает высокими теплоизоляционными свойствами. Благодаря этому микроорганизмы в торфе защищены от перепадов температур. Убедительным примером эффективного действия иммобилизованных на торфе микроорганизмов-деструкторов являются результаты промышленного испытания препарата РОДОБЕЛ-ТН в 2013 году при очистке 30 тонн грунта, загрязненного в результате аварийного разлива нефти НПС «Гомель» ОАО «Гомельтранснефть Дружба». Испытания препарата проводились в осенний период при средней дневной температуре воздуха 7-9$^0$С и ночной – 4-5$^0$С. За 30 дней действия препарата – с 23 сентября по 23 октября содержание нефти в образцах очищаемой почвы при исходном уровне нефтяного загрязнения 11,85 г/кг снизилось до 2,685 г/кг, т.е. степень очистки составила около 90%.

Ранее проведенные исследования эффективности очистки почвы от нефти биосорбционным препаратом РОДОБЕЛ-ТН в условиях загрязнения почвы нефтью до уровня 100 и 200 ПДК (5,0 и 10,0 г/кг соответственно) выявили степень очистки почвы за 3 месяца (май – июль) на уровне 99,1 и 92,4 %, соответственно.

Препарат многократно использован на небольших площадях в ряде хозяйств Республики Беларусь, в том числе и участков, загрязненных тяжелыми нефтепродуктами. В июне 2011 году с помощью препарата проведена биоремедиация почвы промплощадки с уровнем загрязнения мазутом до 9 г/кг. Проведенный в июле 2012 года отбор почвенных образцов позволил зафиксировать остаточное содержание нефтепродуктов в количестве 0,1 г/кг почвы.

Эффективность применения биосорбционого препарата РОДОБЕЛ-ТН для ликвидации нефтяных загрязнений доказана на различных субстратах при разном уровне загрязнения и подтверждена многочисленными актами внедрения. Препарат с успехом может быть использован для ремедиации нефтешламов, для очистки нефтезагрязненных почвогрунтов во всех отраслях промышленности, связанных с переработкой, транспортировкой или хранением нефти и нефтепродуктов, а также при ликвидации последствий аварий или катастроф на нефтепроводах.

1.

**Гнатюк І.С.[1], Горбатюк І.Р.[2], Банникова М.О.[2]**
[1]НТУУ «КПІ», Київ, Україна
[2]ІКБГІ НАН України, Київ, Україна

## ВПЛИВ АНТИБІОТИКУ ЦЕФТРИАКСОНУ НА РЕГЕНЕРАЦІЮ *IN VITRO* ПШЕНИЦІ МЯКОЇ *TRITICUM AESTIVUM* L. СОРТІВ ПОДОЛЯНКА ТА ЗИМОЯРКА

*The impact of different concentrations of β-lactam antibiotic Ceftriaxone on two wheat varieties in vitro regeneration was tested. 18 days formed calli obtained from apical meristem of wheat was used in the study. It is established that the application of ceftriaxone concentration that eliminates agrobacterium (400 mg/l) increased the frequency of regeneration in two wheat genotypes. Therefore, it is advisable to use during Agrobacterium-mediated transformation in vitro, because it not only inhibits the growth of bacterial cells, but stimulates the morphogenesis processes and increases the regeneration frequency.*

**Вступ**. Розробка ефективних біотехнологій, спрямованих на створення рослин пшениці, стійких до хвороб та стресових чинників довкілля, пов'язана з вирішенням цілої низки фундаментальних питань. Це, насамперед, дослідження, пов'язані із введенням рослинних тканин і органів в культуру *in vitro*, аналізом індукованої і природної генетичної мінливості клітинних популяцій, регенерацією із них рослин і мікроклональним розмноженням регенерантів.

Найбільш поширеним методом отримання трансгенних рослин є генетична трансформація з використанням бактерій роду *Agrobacterium* як біологічного вектора для передачі екзогенних Т-ДНК в рослинну клітину. Але методологія *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації *in vitro* для злакових і, зокрема, пшениці розроблена не до кінця.

Ефективність *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації рослин *in vitro* залежить в основному від генотипу рослини, типу експланта, генетичного вектора, бактеріального штаму та складу живильного середовища. Проте, успіх у даному процесі неможливий без ефективної елімінації бактеріальних клітин та регенерації рослин-трансформантів. Антибіотики, які використовуються для усунення агробактерій і для цього додаються в живильні середовища, можуть негативно впливати на регенерацію *in vitro* [1].

Чутливість рослин до антибіотиків є видоспецифічною і залежить, в основному, від типу та концентрації антибіотика, типу експланта та умов культивування. Тому, перш ніж їх застосовувати для запобігання чи усунення небажаних мікроорганізмів, необхідно визначити тип і концентрацію антибіотика з найменшим фітотоксичним впливом на рослинні клітини. Як правило, препарати β-лактамної групи вважаються нетоксичними для клітин рослин через їх специфічну дію на бактерії [2], але в деяких випадках продукти розпаду цих антибіотиків у живильному середовищі можуть по-різному впливати на ріст рослинної клітини. Таким чином, їх фітотоксичність може значно варіювати залежно від концентрації антибіотику та виду рослин [3, 4].

**Мета**. Встановлення впливу цефтриаксону, залежно від його концентрації, на регенерацію *in vitro* пагонів у м'якої пшениці *Triticum aestivum* L. сортів Зимоярка та Подолянка.

**Матеріали і методи**. Досліджували вплив цефтриаксону на регенерацію пшениці у концентраціях від 25 до 500 мг/л з кроком 25 мг/л.

В якості експлантів для визначення впливу на морфогенез і регенерацію вибраних концентрацій досліджуваного антибіотика використовували сформований 18-денний калюс, отриманий з апікальних меристем пшениці *T. aestivum* L. сортів Зимоярка та Подолянка.

Такий вибір вихідного культиваційного матеріалу зумовлено його доступністю протягом року у великих кількостях і відсутністю сезонних впливів на культури тканин [5]. Калюс поміщали у чашки Петрі (близько 50 шт.) на регенераційне живильне середовище МСР4 [6], доповнене відповідними концентраціями антибіотику цефтриаксону. Культивування проводили за температури 24 °С і 16 год фотоперіоду протягом 30-ти діб. Кількість зразків морфогенного калюсу відмічали на 7-му добу культивування. Динаміку регенерації рослин фіксували з 15-ї по 30-ту добу кожні 5 діб. В якості контролю використовували середовище для регенерації МСР4 без додавання антибіотика [6]. Відсоток утворення пагонів визначали як співвідношення числа експлантів, які утворили регенеранти, до загального числа експлантів.

Результати статистично обробляли за допомогою програми Microsoft Excel. Для оцінки достовірності результатів розраховували критерії Фішера і Стьюдента при $P \leq 0{,}05$, які становлять 7,9 та 5,5 відповідно.

**Результати**.

Таблиця 1. Вплив антибіотика цефтриаксону на частоту утворення морфогенного калюсу і регенерацію пагонів пшениці м'якої

| Концентрація Цефтриаксону, мг/л | сорт Зимоярка | | | сорт Подолянка | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Частота, % | | | Частота, % | | |
| | Частота утворення морфогенного калюсу | Ризогенез | Регенерація | Частота утворення морфогенного калюсу | Ризогенез | Регенерація |
| 25 | 71,8±1,3 | 53,5±2,4 | 58,5±1,8 | 72,6±1,2 | 65,8±1,8 | 30,1±4,2 |
| 50 | 77,6±4,3 | 58,9±1,5 | 58,1±3,2 | 77,8±2,8 | 67,2±1,1 | 18,2±3,2 |
| 75 | 70,8±4,0 | 59,3±4,0 | 43,1±3,6 | 64,6±1,5 | 66,4±0,2 | 19,1±2,1 |
| 100 | 75,8±2,8 | 38,8±2,6 | 42,6±3,5 | 90,1±1,5 | 77,2±2,2 | 22,6±3,3 |
| 125 | 96,1±3,5 | 74,4±1,8 | 23,2±1,1 | 96,1±2,7 | 60,3±1,2 | 20,8±0,4 |
| 150 | 91,8±4,2 | 72,3±2,7 | 29,0±0,2 | 98,5±2,5 | 74,9±2,6 | 16,3±0,6 |
| 175 | 94,7±1,7 | 72,5±3,4 | 33,0±0,7 | 94,1±5,2 | 66,7±2,3 | 11,4±1,6 |
| 200 | 72,2±2,2 | 40,0±1,3 | 36,1±0,6 | 77,3±1,6 | 79,1±4,9 | 17,5±2,0 |
| 225 | 93,4±3,3 | 78,9±3,1 | 37,7±0,8 | 95,5±4,2 | 86,3±2,4 | 12,1±1,1 |
| 250 | 82,7±1,3 | 66,3±4,2 | 39,4±0,1 | 78,6±1,7 | 40,9±3,8 | 10,7±0,5 |
| 275 | 97,3±1,1 | 64,5±4,8 | 36,3±1,3 | 92,7±0,6 | 65,9±4,0 | 16,7±1,5 |
| 300 | 85,0±1,2 | 50,7±3,4 | 41,2±1,3 | 78,0±2,1 | 43,8±4,8 | 10,3±3,5 |
| 325 | 97,2±0,1 | 66,2±2,1 | 30,0±0,8 | 95,8±4,1 | 68,5±4,5 | 23,3±0,2 |
| 350 | 77,3±4,7 | 44,7±1,7 | 16,5±0,3 | 98,3±0,5 | 33,5±4,4 | 36,1±1,7 |
| 375 | 95,0±1,4 | 74,1±3,2 | 24,8±0,7 | 95,8±3,7 | 70,3±3,5 | 33,5±2,2 |
| 400 | 70,2±1,9 | 43,3±4,4 | 34,1±4,2 | 91,7±3,0 | 52,4±4,3 | 14,3±4,3 |
| 425 | 97,0±1,8 | 57,4±2,7 | 24,2±1,8 | 97,2±2,8 | 67,0±2,7 | 19,9±3,6 |
| 450 | 94,4±4,6 | 55,2±1,0 | 22,7±4,8 | 95,6±2,9 | 50,8±1,4 | 16,3±1,4 |
| 475 | 94,0±3,0 | 61,5±1,4 | 16,5±1,2 | 91,6±2,8 | 70,9±4,6 | 11,6±1,5 |
| 500 | 97,9±2,4 | 60,2±3,6 | 13,7±1,1 | 95,1±2,1 | 66,9±4,0 | 11,2±2,6 |
| **Контроль** | **76,6±2,1** | **75,7±2,7** | **26,5±1,6** | **55,8±1,8** | **31,0±1,6** | **25,5±2,4** |

*Примітка*: Тут і далі $p \leq 0{,}05$. Наведені середні арифметичні значення.

Розвиток пагонів розпочинався на 2-й тиждень культивування. Наявність у живильному середовищі цефтриаксону у концентрації 25 мг/л і 50 мг/л забезпечує максимальний відсоток утворення регенерантів (до 58%) сорту Зимоярка, мінімальна кількість пагонів спостерігається за використання концентрації 350 мг/л. У випадку сорту Подолянка максимальна частота регенерації спостерігається при внесенні у живильне середовище 350 мг/л цефтриаксону (табл. 1). Цефтриаксон у концентрації 400 мг/л стимулює утворення пагонів (до 34%) у сорту Зимоярка. Поряд із цим, дана концентрація забезпечує ефективну елімінацію клітин *A. tumefaciens* [7].

**Висновки**. На основі отриманих даних можна стверджувати, що частота регенерації пшениці залежить від генотипу, типу антибіотика та його концентрації у культуральному середовищі. Показано, що наявність будь-якої кількості антибіотика цефтриаксону (від низької до високої) стимулює утворення коренів в обох сортів пшениці. За використання цефтриаксону некрозу калюсів і регенерантів не спостерігали. Таким чином, нами встановлено, що при застосуванні елімінуючих агробактерії концентрацій цефтриаксону (400 мг/л) підвищується частота регенерації у пшениці двох генотипів. Його доцільно застосовувати під час *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації *in vitro*, оскільки він не лише пригнічує ріст бактеріальних клітин, а й стимулює процеси морфогенезу та підвищує частоту регенерації.

**Література:**


1. *Si-Nae Han et al.* Effects of antibiotics on suppression of *Agrobacterium tumefaciens* and plant regeneration from wheat embryo // Journal of Crop Science and Biotechnology. – 2007. – Vol. 10. – P. 92-98.
2. *Grzebelus E.* Effect of β-lactam antibiotics on plant regeneration in carrot protoplast cultures // In Vitro Cell. Dev. Biol. – 2014. – Vol. 50. – P. 568-575.
3. *Tang H. et al.* An evaluation of antibiotics for the elimination of *Agrobacterium tumefaciens* from walnut of somatic embryos and for the effects on the proliferation of somatic embryos and regeneration of transgenic plants // Plant Cell Reports. – 2000. – Vol. 19. – P. 881-887.
4. *Farzaneh A. et al.* Determine effective concentrations of β-lactam antibiotics against three strains of *Agrobacterium tumefaciens* and phytotoxicity on Tomato and Tobacco // International Journal of Agronomy and Plant Production. – 2013. – Vol. 4. – P. 2919-2925.
5. *Sharma V. K. et al.* Influence of picloram and thidiazuron on high frequency plant regeneration in elite cultivars of wheat with long-term retention of morphogenecity using meristematic shoot segments // Plant Breed. – 2005. – V.124. – P. 242-246.
6. *Gorbatyuk I.R. et al.* Effect of synthetic auxin like growth regulators on callus regenerative ability of common wheat cv. Zymoyarka // Biotechnologia acta. – 2015. – Vol. 8. – № 1. – P. 56-62.
7. *Gorbatyuk I.R.* Effect of antibiotics Timentin and Ceftriaxone at the Elimination of *Agrobacterium tumefaciens* and Regeneration *in vitro* Bread Wheat *Triticum Aestivum* // Міжнародна наукова конференція: Актуальні проблеми клітинної біології та біотехнології (International Conference on Advances in Cell Biology and Biotechnology). Львів, 11-13 жовтня 2015 р. – Л., 2015. – С.90.

**Горбатюк І. Р.[1], Гнатюк І. С. [2], Трояновська Л. В. [2], Жалій Н. А. [3], Банникова М.О. [4], Моргун Б.В. [4]**
[1]ІКБГІ НАН України, Київ, Україна
[2]НТУУ «КПІ», Київ, Україна
[3]НУХТ, Київ, Україна
[4]ІКБГІ НАН України, Київ, Україна

## ВИЗНАЧЕННЯ НАЯВНОСТІ ТА ЕКСПРЕСІЇ ТРАНСГЕНІВ ПІСЛЯ *AGROBACTERIUM*-ОПОСЕРЕДКОВАНОЇ ТРАНСФОРМАЦІЇ ПШЕНИЦІ *TRITICUM AESTIVUM*L. СОРТІВ ЗИМОЯРКА ТА ПОДОЛЯНКА

*The main aim of research was to find out existence and expression of transgenes for Agrobacterium-mediated transformation of bread wheat Triticum aestivum L. cultivar Zymoyarka and Podolyanka. Polymerase chain reaction was used to detect transgenes existence and expression. Using PCR analysis of the presence of nptII transgene sequences was found in 30 samples (20.7%) out of 145 possible. The expression of gene was found in all the plants.Positive signal of presence bar was observed in 85 plants,thus transformation efficiency was 15,6%. Presence of bar expression was observed in 50% of samples.*

**Вступ**. Розвиток біологічної науки значно розширив і збагатив арсенал методів та підходів для створення нових сортів. До таких підходів належать біотехнологічні методи, які базуються на використанні культури *in vitro*, та генно-інженерні, які використовують різні способи перенесення генетичного матеріалу.

Згідно з опублікованими даними, більшість трансгенних рослин пшениці отримані за допомогою прямого переносу генів – біолістичним методом [1,2,3,4,5]. Тим не менш, така трансформація має ряд обмежень та недоліків, основним з яких є можливі перебудови перенесених ДНК касет та мультикопійність, що зумовлюють «замовчування» відповідних генів [6].

Хоча *Agrobacterium*-опосередкована трансформація є досить складним і тривалим процесом, який передбачає участь бактеріальних генетичних детермінант і клітин рослини-господаря, вона має ряд переваг над біолістичною трансформацією. Застосування такого методу дозволяє використовувати генетичні конструкції відносно великого розміру та призводить до мінімальних порушень у структурних послідовностях генів, що переносяться [7,8]. Це дає можливість підвищити ефективність експресії перенесених генів.

На сьогодні основним завданням генетичної трансформації є не лише отримання трансгенних ліній пшениці, а й надійна, стабільна експресія цільових генів та їх успадкування у наступних поколіннях.

**Мета**. Встановити експресію цільових генів у трансгенних рослинах пшениці сорту Подолянка та Зимоярка, отриманих після *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації *in planta*.

**Матеріали та методи.**Матеріалом досліджень були сорти м’якої пшениці вітчизняної селекції Зимоярка та Подолянка, надані Інститутом фізіології рослин і генетики НАН України. Сорт Зимоярка є дворучкою – поєднує два типи розвитку: озимий та ярий в той час, як сорт Подолянка належить до озимих пшениць.

Після застосування *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації *in planta* все отримане насіння висівали у грунт для подальшого дослідження. Частину листя рослин пшениці покоління $T_0$ аналізували на присутність послідовностей генів *npt*II, *bar* і вірулентності агробактерій (*Vir*C) за використання полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), з

використанням специфічних праймерів: *nptII* – Kan 1F та Kan 1R; *bar* – SBE-barF та SBE-barR [9].

Для з'ясування, чи відбувається транскрипція генів *npt*II та *bar* у рослинному геномі, проводили виділення загальної РНК. Загальну РНК також виділяли із листкового матеріалу рослин *Triticum aestivum*, трансформованих генетичними векторами p014 та pCB203. Синтез кДНК здійснювався з використанням набору First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Scientific) згідно інструкцій виробника. Синтезована кДНК аналізувалася на присутність генів *npt*II та *bar* методом ПЛР, з використанням специфічних праймерів. Реакції ампліфікації проводили в термоциклерах Arctic Thermal Cycler (Thermo Scientific) і Mastercycler Gradient (Eppendorf). Продукти ампліфікації розділяли в 1,2% агарозному гелі, забарвленому розчином бромистого етидію, візуалізували в ультрафіолетовому світлі і фотографували.

**Результати**. За допомогою ПЛР-аналізу наявніть послідовності трансгена *npt*II виявлено у 30 зразках із 145 (рис. 1). Частота трансформації становить 20,7%.

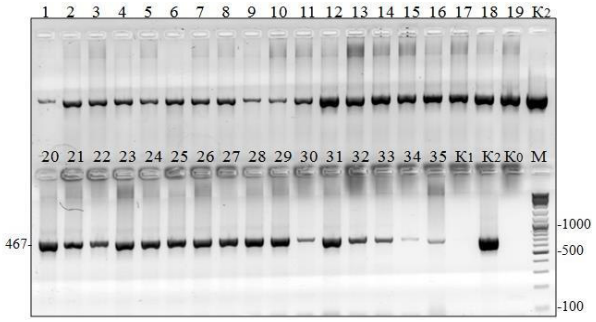



Рис.1 Електрофореграма продуктів ампліфікації ДНК із використанням специфічних праймерів до гена *npt*II.

Доріжки 1-35 – досліджувані зразки, К1 – ДНК нетрансформованої пшениці сорту Подолянка у якості негативного контролю, К2 – позитивний контроль – ДНК N. tabacum, трансформованого конструкцією p014, К0 – негативний контроль – ТЕ буфер, М – маркер молекулярної маси DNA Ladder Mix.

Дослідження експресії трансгену nptII у позитивних зразках пшениці здійснювали на рівні транскрипції. Для цього проводили полімеразну ланцюгову реакцію, поєднану зі зворотною транскрипцією (ЗТ-ПЛР). В якості позитивного контролю використовували рослини тютюну N. tabacum, трансформовані векторами p014 та pCB203.

ПЛР-аналіз синтезованої в ході реакції зворотної транскрипції кДНК показав наявність експресії даного гену у всіх тестованих пробах (рис. 2).

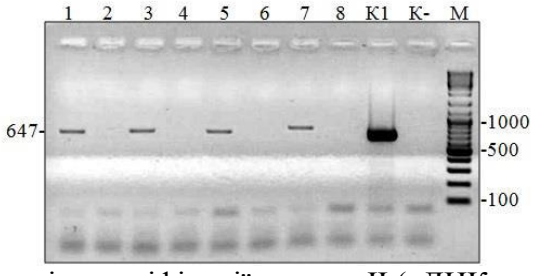



Рис.2. Електрофореграма продуктів ампліфікації гена *npt*II (кДНК, синтезована за допомогою реверсивної транскриптази з РНК трансгенних рослин пшениці).

Доріжки 1, 3, 5, 7 – кДНК трансформованих рослин пшениці сорту Подолянка; 2, 4, 6, 8 – контроль (ті самі проби кДНК, але без використання реверсивної транскриптази); К1 – позитивний контроль (кДНК, синтезована з РНК трансгенної рослини N. tabacum, трансформованої плазмідою р014); К- – негативний контроль – ТЕ буфер; М – маркер молекулярної маси DNA Ladder Mix.

У рослинах пшениці, трансформованих генетичним вектором рСВ203 проводили детекцію послідовності гена bar. За результатами ПЛР-аналізу наявність генетичної послідовності виявлено у 85 зразках. Ефективність трансформації за трансгеном bar складала 15,6% (рис. 3) від загальної кількості відібраних зразків.

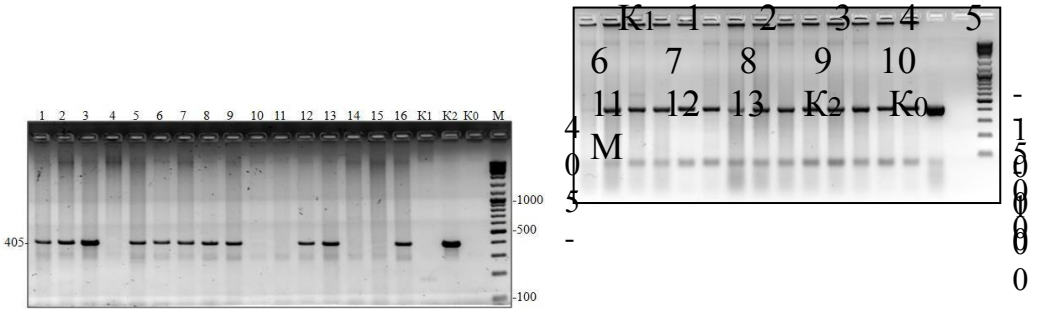



Рис.3. Електрофореграма продуктів ампліфікації ДНК із використанням специфічних праймерів до гена *bar.*

Доріжки 1-16 – досліджувані зразки; К1 – ДНК нетрансформованої пшениці сорту Зимоярка у якості негативного контролю; К2 – позитивний контроль – ДНК N. tabacum, трансформованого конструкцією рСВ203; К0 – негативний контроль – ТЕ буфер; М – маркер молекулярної маси DNA Ladder Mix.

У відібраних позитивних зразках проводили дослідження експреції трансгена bar. За результатами ЗТ-ПЛР наявність експресії гена bar спостерігається у 50% відібраних зразків (рис.4).

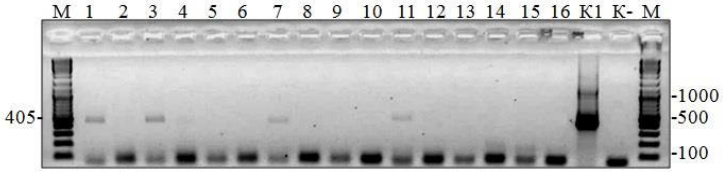



Рис. 4. Електрофореграма продуктів ампліфікації гена *bar* (кДНК, синтезована за допомогою реверсивної транскриптази з РНК трансгенних рослин пшениці).

Доріжки 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15 – кДНК трансформованих рослин пшениці сорту Подолянка; 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 – контроль (ті самі проби кДНК, але без використання реверсивної транскриптази); К1 – позитивний контроль (кДНК, синтезована з РНК трансгенної рослини *N. tabacum,* трансформованої плазмідою рСВ203); К- – негативний контроль – ТЕ буфер; М – маркер молекулярної аси DNA LadderMix.

Рослини пшениці, які за результатами ПЛР-аналізу містять ген *bar* досліджували на стійкість до гербіциду Баста® (активна речовина L-фосфинотрицин). Для цього їх обробляли розчином гербіциду у концентрації 1,5 мг/мл. Як контроль використовували нетрансформовані рослини пшениці. Про експресію гена *bar* свідчила стійкість трансгенних рослин до гербіциду. За результатами фізіологічного тесту серед проаналізованих рослин стійкість проявляли 25% від загальної кількості досліджуваних рослин.

**Висновки**. Таким чином, було проведено агробактеріальну трансформацію *inplanta*озимого сорту Подолянка та озимо-ярого сорту Зимоярка. Аналіз за допомогою ПЛР дозволив виявити сигнал присутності трансгену *npt*II у 30 зразків із 145, що становить 20,7%. Дослідження експресії трансгену проводилася за допомогою ЗТ-ПЛР. Експресія була виявлена у всіх досліджуваних зразків.Разом із тим, наявність гену *bar*була виявлена у 15,6% від загальної кількості обраних зразків. Експресія гену спостерігалася лише у 50% дослідного матеріалу. За результатами фізіологічного тесту 25% рослин, що містять ген *bar,* виявили стійкість до гербіциду Баста®.

**Література.**


1. Altpeter F. et al. Accelerated production of transgenic wheat (Triticum aestivum L.) plants // Plant Cell Reports. – 1996. – **16**. – P. 12–17.
2. Lazzeri P. A., Jones H. D. Transgenic wheat, barley and oats: production and characterization // Methods in Molecular Biology. – 2009. – **478**. – P. 3–22.
3. Vasil V. et al. Herbicide resistant fertile transgenic wheat plants obtained by microprojectile bombardment of regenerable embryogenic callus // Biotechnol. – 1992. – **10**. – P. 667–674.
4. Weeks J. T., Anderson O. D., Blechl A. E. Rapid production of multiple independent lines of fertile transgenic wheat (Triticum aestivum L.) // Plant Physiology. – 1993. – **102**. – P. 1077–1084.
5. Zhou H. et al. Glyphosate-tolerant CP4 and GOX genes as a selectable marker in wheat transformation // Plant Cell Reports. – 1995. – **15**. – P. 159–163.
6. Пат. 2507736 Российская Федерация МПК A01H 1/00. Способ создания трансгенных растений с высоким уровнем экспрессии трансгенного белка/ Бончук А.Н. et al; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии гена Российской академии наук (ИБГ РАН). - №2507736 заявл11.01.2011 опубл. 27.02.2014
7. Dai S. H. Comparative analysis of transgenic plants obtained by Agrobacterium-mediated transformation and particle bombardment // Mol Breed. – 2001. – **7.** – P. 25–33.
8. Ding L. Optimization of Agrobacterium-mediated transformation conditions in mature embryos of elite wheat // Mol Biol Rep. – 2009. – **36.** – P. 29–36.
9. Sestili F. et al. Research article Increasing the amylose content of durum wheat through silencing of the SBEIIa genes / F. Sestili et al. // BMC Plant Biology. – 2010. – Vol. 10. – P. 1–12.

**Горшкова О.Г., Ільченко О.М.**
Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, Одеса, Україна

## ЗАСТОСУВАННЯ БАКТЕРІЙ РОДУ *PSEUDOMONAS* В БІОТЕХНОЛОГІЯХ ОЧИСТКИ ВОДИ ВІД ПОЛЛЮТАНТІВ

*Isolated strains from sea water, are identified by a fatty acid composition as P. fluorescens ONU328 and P. maltophilia ONU329, had high metal-accumulating and phenol destructive activity. Laboratory tests showed high efficiency developed technology system for the cleaning wastewater the second reactor cooling circuit of the South Ukrainian nuclear power of pollutants.*

Забруднення водного середовища токсикантами шкодить здоров'ю людини і приводить до значного зменшення биологічного різноманіття [1, 2]. Тому актуальною проблемою є розробка нових комплексних біотехнологій захисту водного середовища від забруднення важкими металами і органічними полютантами [3, 4].

У зв'язку з цим метою роботи була розробка біотехнології очищення води від полютантів з застосуванням колекційних штамів бактерій роду *Pseudomonas*. У завдання досліджень входило вивчення технологічних властивостей бактерій - здібності до акумуляції важких металів та деструкції фенолу; ідентифікація за жирнокислотним складом відібраних штамів, розробка технологічної схеми очищення води від полютантів та проведення її лабораторних випробувань на металовмісних водах.

Материалом для дослідження були колекційні штами *Pseudomonas sp.* ONU *328 і Pseudomonas sp.* ONU *329.*

В результаті досліджень встановлено, що домінантними в жирнокислотному профили штама *Pseudomonas sp.* ONU 329 були структурні ізомери насищених жирних кислот (~ 42,0%), з котрих 32,0% приходилось на 13-метилтетрадеканову кислоту (C15: 0 iso). Доля 12-метилтетрадеканової кислоти від заальної площі піків складала 17,4%. У 5,6 разів меньше порівняно зі структурними ізомерами насичених жирних кислот виявлено нерозгалужені насичені жирні кислоти (7,5%). За якісним і кількісним складом жирних кислот з високим індексом схожості підтверджено видову приналежність колекційних штамів до *Pseudomonas maltophilia* ONU *329* та *Pseudomonas fluorescens* ONU *328.*

Вони показали високу ефективність біоакумуляції іонів Cu, Zn, і Pb.

Ступінь вилучення Cu і Pb клітинами *Pseudomonas fluorescens* ONU 328 була більше 50%. Менш виражену акумулюючу активність проявляв штам *Pseudomonas fluorescens* ONU3 28 до Zn та Cd .

Штам *Pseudomonas maltophilia* ОНУ-329 проявляв більш високу металакумулюючу здатність. Нагромадження Pb сягало 84,0 % , а Cu - 65,1 % . Ступінь вилучення ионів кадмію була мінімальною.

Експериментально підтверджена здатність бактерій *Pseudomonas maltophilia ONU329* та *Pseudomonas fluorescens* ONU *328* до деградації фенолу. Найбільш високий рівень фенолдеструктивної активності штамів *Pseudomonas maltophilia* ONU *329* та *Pseudomonas fluorescens* ONU *328* визначався при 30 °С.

Штам *Pseudomonas maltophilia* ONU 329 проявляв більш виражену фенолдеструктивну активність ніж штам *Pseudomonas fluorescens* ONU *328.*

Нами була розроблена технологічна схема очистки стічних вод від полютантів, яка передбачає використання трьох ступеней очистки води - біофлокуляцію, фільтрацію у біофільтрі, - біосорбцію.

Лабораторні випробування показали ефективність використання розробленої технологічної схеми для очистки стічних вод другого контуру охолодження реактора ПУ

АЕС - біофлокуляція зменшувала вміст іонів Cr (VI) і Cu (II) у стічній воді у 1,2 - 1,3 рази, біофільтрація і сорбція сприяла зниженню вмісту іонів Cu (II) до 0,021±0,001 мг/л і 0,020±0,003 мг/л, відповідно, що відповідає еколого-гігієнічному показнику якості "вода досить чиста".

Таким чином, лабораторні випробування показали високу ефективність використання бактерій роду *Pseudomonas* для очистки реальних стічних вод від полютантів.

**Література:**

1. Будников Г.К. Диоксины и родственные соединения как экотоксиканты // Соросовский образовательный журнал.- 1997.- № 26.- С. 38-44.
2. Майстренко В.Н., Хамитов Р.З., Будников Г.К. Эколого-аналитический мониторинг суперэкотоксикантов.- М.: Химия, 1996. - 320 с.
3. Шулаев М.В. Научные основы обезвреживания и жидких отходов гальванических и металлообрабатывающих производств с использованием анаэробной биосорбционной технологии // Автореф. дис… д-ра. техн. наук: 03.00.16, 03.00.23. – Казань, 2009. – 23 с.
4. Rani N.L., Lalithakumari D. K. Degradation of methyl parathion by Pseudomonas putida // Candian Journal of Microbiology. -1994. -Vol. 40. –P. 1000–1006.

**Горшкова О.Г., Самофалов М.О.**
Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, Одеса, Україна

## РОЗРОБКА БІОТЕХНОЛОГІЇ ОЧИЩЕННЯ БЕРЕГОВОЇ ЗОНИ О. ЗМІЇНИЙ ВІД ВУГЛЕВОДНІВ НАФТИ

*Developed biotechnology cleaning coastal zone of Zmiiniy island of petroleum carbohydrates using bacteria-destructors. Of contaminated oil saline soil of Zmiiniy island isolated 2 strains biochemically active bacteria.The results of the study biological properties and fatty acid composition isolated strains were identified as Pseudomonas fluorescens $1_7$, and Bacillus megaterium $2_2$.* Develop *technological system soil cleaning oil. Laboratory tests showed perspectives of using developed biotechnology to clean the coastal zone of Zmiiniy island of petroleum carbohydrates*

Важливою проблемою є створення нових біотехнологій на основі аборигенних штамів мікроорганізмів-деструкторів, що пристосовані до жорстких умов існування у конкретному регіоні [1-3].

В зв'язку з цим метою роботи була розробка біотехнології очищення берегової зони о. Зміїний від вуглеводнів нафти з застосуванням бактерій-деструкторів.

Експериментальна частина роботи виконана в Науково-навчальному біотехнологічному центрі Одеського університету імені І. І. Мечникова.

Матеріалом для дослідження були мікроорганізми виділені з забрудненого нафтопродуктами ґрунту острові Зміїний .

В роботі використовували класичні бактеріологічні методи, автоматичну систему ідентифікації мікроорганізмів MIDI Sherlock (MIDI, USA) на базі газового хроматографа Agilent 7890, метод інфрачервоної (ІЧ) спектрометрії.

З нафтозабрудненого ґрунту о. Зміїний виділено 2 штами мікроорганізмів, здібних зростати на агаризованому середовищі МКД з додаванням нафти.

Домінантними в жирнокислотному профілі штаму *Bacillus* sp. $2_2$ були ізомери насичених жирних кислот (56,6%), із яких 16,9% і 23,3% припадало на ізомери $C_{13}$:0 і $C_{15}$:0. Характерною особливістю є те, що при однаковій кількості атомів вуглецю у вуглеводневого радикалу ($C_{16}$) сумарна доля насичених ЖК $C_{16}$:0 (2,6%) і $C_{16}$:0 iso (4,8%) в 1,78 рази менше за долю ненасичених ЖК $C_{16}$:1 w6c / $C_{16}$:1 w7c (13,3%). Відмінністю штаму *Pseudomonas* sp. $1_7$ від штаму *Bacillus* sp. $2_2$ є незначне зростання коефіцієнту насиченості з 4,2 до 4,8.

За одержаним жирнокислотним складом, розшифрованим з використанням бібліотечної бази даних досліджувані мікроорганізми ідентифіковані як бактерії роду *Bacillus* та *Pseudomonas*.

За біологічними властивостями штам *Pseudomonas* sp. $1_7$, виділений з забрудненого нафтою грунту о. Зміїний, був ідентифікований як *Pseudomonas fluorescens* $1_7$, штам *Bacillus* sp. $2_2$ - як *Bacillus megaterium* $2_2$.

Досліджувані штами мікроорганізмів володіли нафтоокиснювальною активністю. Через 90 діб експозиції ступінь біодеструкції вуглеводнів нафти при використанні штаму *Pseudomonas fluorescens* $1_7$ сягав 76,4 %, штаму *Bacillus megaterium* $2_2$ - 63,5 %.

З метою розробки біотехнології очищення ґрунтів острова Зміїний від нафтопродуктів у експедиційних умовах відбирали і доставляли до лабораторії зразки ґрунту з ділянки найбільш вираженого хронічного забруднення [4]. Вихідний вміст нафтопродуктів складав 41,54±2,23 г/кг ґрунту. У лабораторних умовах при температурі 25 $^oC$ був закладений експеримент з очищення ґрунту від нафтопродуктів.

Використана нами технологія передбачала застосування біопрепарату, що являє собою клітини бактерій *Bacillus megaterium* $2_2$ і *Pseudomonas fluorescens* $1_7$, імобілізовані за спеціальною біотехнологією на торфі та соломі.

Технологічна схема очистки ґрунту від нафтопродуктів включала переорювання ґрунту, нанесення шару сорбентів і біопрепарату, зрошування рідкою культурою консорціума бактерій *Bacillus megaterium* $2_2$ і *Pseudomonas fluorescens* $1_7$, засів ділянки трав'янистими рослинами та сидерацію.

Лабораторні випробування показали, що використання імобілізованих на природних субстратах бактерій *Bacillus megaterium* $2_2$ і *Pseudomonas fluorescens* $1_7$ сприяє очищенню ґрунту від нафтопродуктів. Через 150 діб після початку випробувань зміст нафтопродуктів у ґрунті знизився до 4,005±0,11 г/кг ґрунту (96,42 %) від початкового рівня 41,54±2,23 г/кг ґрунту.

На підставі проведених досліджень можна зробити висновок про те, що використання пристосованих до жорстких умов існування на о. Зміїний аборигенних штамів бактерій-деструкторів вуглеводнів нафти *Bacillus megaterium* $2_2$ і *Pseudomonas fluorescens* $1_7$ є перспективним при створенні сучасних вискоефективних біотехнологій очистки ґрунту від нафтопродуктів.

**Література**

1. Белик Е.С., Рудакова Л.В., Калашникова М.Е. Оценка эффективности применения биосорбента на основе карбонизата в процессе деструкции углеводородов нефти // Теоретическая и прикладная экология. – 2013. - № 1. – С. 22-26.
2. Гоголева О.А., Немцева Н.В. Углеводородокисляющие микроорганизмы природных екосистем // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН (электронный журнал). – 2012, № 2. – С. 1-7.
3. Григориади А.С. Оценка эффективности применения биопрепаратов и фитомелиорантов в биоремедиации нефтезагрязненных почв : диссертация ... кандидата биологических наук : 03.01.06, 03.02.08 / Григориади Анна Сергеевна; [Место защиты: Ин-т биологии Уфим. науч. центра РАН].- Уфа, 2010.- 227 с.: ил. РГБ ОД, 61 11-3/300.
4. Гудзенко Т.В. та ін. Визначення вмісту нафтопродуктів і водорозчинних солей у грунті на нафтозабруднених ділянках острова Зміїний перед їх біотехнологічною обробкою // Міжвідомчий тематичний науковий збірник "Агрохімія і грунтознавство" (Харків) – 2015. – Вип. 82. – С. 68-74.

**Gretsky I.A., Kisten O.G.**
Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

## INFLUENCE OF THE MOON POSITION ON THE *PHOTOBACTERIUM PHOSPHOREUM* LUMINESCENCE INTENSITY

*In the present study Photobacterium phosphoreum IMV B-7071 specific luminescence intensity under influence of the moon position were evaluated. P. phosphoreum cells were scored in standard conditions every day for 4 months.*
*Data of bacterial luminescence analysis showed a slight increasing of biomass and cells luminescence intensity at higher moon surface illumination. Results obtained in our study suggest that luminescence intensity of P. phosphoreum IMV B-7071 bacterial cells can be used as an indicator of the moon position impact on microorganisms although additional researches are required.*

Biota exposure to geophysical disturbances has been observed throughout the history of mankind. The relationship between the intensity certain diseases and the moon phase was scientifically proven in the early twentieth century, which should be considered factor while carrying out various studies.

At present, the influence of the moon on a biological object is explained by the hypothesis of "biological tide", according to which alive cells containing around 80% water are affected by the gravitational forces of the moon, like the oceans and seas. It is assumed that this exposure occurs due to the change in the structure of water and permeability of cell membranes altering its physiological functions.

Microorganisms are the simplest and basic part of the biosphere, and their physiological state can serve an indicator of condition of the biosphere as whole. Bioluminescence intensity of luminous bacteria reflects the state of their metabolism and can be used as sensors for monitoring the environmental changes. The advantages of the bioluminescent assays are speed, sensitivity, simplicity, and availability of the devices for toxicity registration. The aim of this work was to studying the Moon Position effect on *Photobacterium phosphoreum* IMV B-7071 bacterial luminescence.

The luminous marine bacterium *P. phosphoreum* strain IMV B-7071 from the culture collection of the Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of the National Academy of Sciences of Ukraine was used in this study. Bacterial biomass was grown for 24 hours at 21˚C. The bacterial suspension of the 3 ml volume and $10^7$ cells/ml was used to evaluate specific luminescence intensity at photomultiplier FEU-115. The Moon Position was assessed by the values of surface illumination using the data of site: http://mirkosmosa.ru/lunar-calendar/phase-moon/2015. The daily measurements were carried out during September-December 2015.

Calculated basic statistics data for analyzed period showed a statistically insignificant direct relationship between Moon surface illumination and the specific luminescence intensity.

**Grodzinsky D., Shylina Yu., Pchelovska S., Litvinov S., Sokolova D., Zhuk V., Tonkal L., Salivon A., Nesterenko O.**
The Institute of Cell Biology and Genetic Engineering of the NASU, Kyiv, Ukraine

## THE EFFECT OF PRE-SOWING RADIATION EXPOSURE ON MEDICINAL PLANT PRODUCTIVITY

*The effect of pre-sowing X-ray exposure of medicinal plant seeds on their germination, growth and productivity was investigated. The existence of dose range, stimulating yield of pharmacologically valuable phenolic compounds, was indicated both for productivity per unit of harvested area and for productivity per 1 g of dry plant material. In the light of experimental evidence we concluded about the prospect of pre-sowing low LET radiation exposure of medicinal plant seeds with stimulating doses.*

**Introduction.** The feasibility of stimulation of crop productivity by radiation exposure had been actively investigated since 50-ies of the last century [1]. We have previously shown that pre-sowing radiation exposure of medicinal plant seeds increased the yield of the pharmacologically valuable secondary metabolites such as flavonoids (rutin, quercetin, cardiac glycosides of *Digitalis purpurea*) both from the unit of harvested area under open-field cultivation and from the 1 g dry weight of the plant material [2, 3]. Integral effect was achieved due to increasing seed germination, growth stimulation, increase vegetative mass, accelerate flowering and accumulation in plant tissues of phenolic compounds.

**The research aim** was to study effects of pre-sowing radiation exposure at non-lethal dose range of some prospect medicinal plant seeds on M1-generation productivity and to find the range of doses having stimulation effect on vegetation parameters and accumulation of pharmacologically valuable phenolic compounds in raw material.

**Matherial and method.** A number of plant species, available for industrial cultivation under natural forest-steppe conditions, had been used in our work: *Matricāria chamomīlla*, *Sílybum mariánum*, *Sālvia officinālis*, *Hypericum perforatum*. Experimental X-radiation exposure doses were chosen according to plant relative radioresistance: 5 Gy, 10 Gy, 20 Gy, 35 Gy, 50 Gy. The seeds were exposed under dose rate 1.42 cGy/s with RUM-17 apparatus in National Institute of Cancer (Kiev, Ukraine). Phenolic content in dry plant material was assessed using spectrophotometric analysis and HPLC in ethanol extracts. Also dose curves for indexes of seed germination, stem growth rate, vegetative mass, the average number and weight of the flowers per plant, flowering time, duration of vegetation were studied.

**Results.** Dose curves for some morphometric indexes confirm the effectiveness of use of pre-sowing low LET radiation exposure of medicinal plant seeds for increasing their productivity. Stimulation has peaked dependence from the exposure dose that points to existence of dose or range of doses of increasing in seed germination, raw and dry stem mass, quantity and weight of flowers recalculated per a plant. Stimulating doses for vegetative growth and accumulation of flavonoid per 1 g of dry mass lies at 5-20 Gy range (with maximum under 10 Gy) according to species, sort and quality of the seeds. This effect was either non significant or had contrary direction under exposure to other doses. Similar dependence was also shown for parameters such as initiation time of budding, flowering, the average duration of vegetation, resistance to the heat and water stress.

We have to point that the technology of radiostimulation of medicinal plant productivity is expected to be safe for human health. Thus, data obtained using HPLC, indicated absence of new specific biochemical compounds in ethanol extracts of *Matricāria chamomīlla* flowers.

**Conclusions.** Based on experimental evidences it can be concluded that in terms of cheapness, simplicity and reproducibility of stimulation effect the most efficient technology is to grow

*Matricāria chamomīlla, Sílybum mariánum, Sālvia officinālis, Hypericum perforatum* in the open field or in the greenhouse/hothouse under optimal environmental conditions. Heat and water stress in the early developmental stages of seedlings partially or completely inhibit the stimulation of vegetation, flowering and flavonoid yield.

**References:**

1. Grodzinsky D.M. Plant radiobiology. / Exec. Edit. Gudkov I.N. – Kiev: Naukova dumka, 1989. – 384 p. [in Russian]
2. D. Grodzinsky, Yu. Shylina, S. Pchelovska, S. Litvinov, D. Sokolova, V. Zhuk, L. Tonkal, A. Salivon, O. Nesterenko The effect of acute X-ray irradiation of medicinal plant seeds on the secondary metabolite productivity **– http://www.rad-conference.org/user_book_abstracts.php -** INTERNATIONAL Conference on Radiation and Applications in Various Fields of Research (4th; 2016; Niš) Book of Abstracts / Fourth International Conference on Radiation and Applications in Various Fields of Research, RAD 4, May 23-27, 2016, Niš, Serbia; [editor Goran Ristić]. - Niš: University, Faculty of Electronic Engineering, 2016 (Niš: Sven). - [XL], 510 str. – P. 214.
3. L. Lioshyna, O. Bulko, S. Pchelovska, A. Berestyanaya, D. Sokolova Effect of X-ray on plants and hairy roots of Digitalis purpurea L.- **http://www.rad-conference.org/user_book_abstracts.php -** INTERNATIONAL Conference on Radiation and Applications in Various Fields of Research (4th; 2016; Niš) Book of Abstracts / Fourth International Conference on Radiation and Applications in Various Fields of Research, RAD 4, May 23-27, 2016, Niš, Serbia; [editor Goran Ristić]. - Niš: University, Faculty of Electronic Engineering, 2016 (Niš: Sven). - [XL], 510 str. – P. 365.

**Грубінко В.В., Луців А.І.**
Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка,
Тернопіль, Україна

## РЕГУЛЯЦІЯ БІОСИНТЕЗУ ЛІПІДІВ У *CHLORELLA VULGARIS* BEIJ. ІОНАМИ МЕТАЛІВ І ДИЗПАЛИВОМ

*Studied the effect ions of $Mn^{2+}$, $Zn^{2+}$, $Cu^{2+}$, $Pb^{2+}$ and diesel fuel on the intensity, direction and localization of lipid biosynthesis in Chlorella vulgaris Beij. in order to develop technologies improving the biosynthesis of lipids for biofuel. For the first time, it is established that biotechnologically effective for the intensification of the biosynthesis of lipids by Chlorella are triacylglycerols – by 6% is effect of $Zn^{2+}$ (5,0 mg/l, 7 days), and phospholipids – by 18-34% are effects of $Cu^{2+}$ (0,002 mg/l, 3 days), $Pb^{2+}$ (0,5 mg/l, 7 days), diesel fuel (0,1 mg/l, 1 and 7 days). It is found that under the impact factors with decreases of number and modification of chloroplasts the content of triacylglycerols and phospholipids increases as a result of adaptive change of the localization of lipid biosynthesis from chloroplasts into cytoplasmic structures. Substrates for lipid synthesis are glycerol-3-phosphate, formed by the phosphorylation of glycerol and acyl-CoA, formed from aminoacids.*

В даний час доведена ефективність та перспективність використання мікроводоростей для виробництва біопалива [1, 2, 4].

Основними перевагами вирощування мікроводоростей як біотехнології органічного синтезу порівняно з іншими рослинами є:

1. Мікроводорості – ефективна біологічна система використання сонячної енергії для виробництва органічних речовин: водорості ростуть швидше, ніж інші рослини впродовж усього року і дають можливість отримати максимальну продуктивність біомаси.
2. Мікроводорості можна вирощувати в будь-якому кліматі з використанням морської і/або солоної води, ресурсів, які не підходять для інших рослин.
3. Життєвий цикл більшості мікроводоростей здійснюється протягом декількох годин, що дозволяє здійснювати швидко генетичний відбір та удосконалювати штам легко і швидко.
4. Багато видів водоростей можуть нокопичувати метаболіти, такі як білки, ліпіди, природні пігменти тощо у особливо високих концентраціях [5].
5. Системи культивування мікроводоростей можуть виробляти до у десятки разів більше біологічно-корисних речовин на гектар в рік, ніж грунтові с/г культури.
6. Культивування мікроводоростей не викликає деградації грунтів, практично не вимагає пестицидів чи гербіцидів, і потребує мінімум енергії для культивування.
7. Мікроводорості можна висушити на сонці або заморозити, а виділення і очищення продуктів органічного синтезу можна по-різному.
8. Мікроводорості можна вирощувати у багатьох країнах з використанням місцевих матеріалів і без складних технологій.
9. Контрольовані експерименти свідчать, що мікроводорості нетоксичні і можуть бути корисним джерелом пробіотичних агентів та об'єктом для виділення та отримання біологічних субстанцій шляхом навантаження їх клітин в експерименті in vivo екзогенними речовинами, включно мікроелементами .

Послідовність процедур з отримання біологічних субстанцій з мікроводоростей: культивування водорості→збирання врожаю→отримання сирого екстракту→виявлення активних сполук→перевірка активності виявлених сполук→виділення сполук (фракціонування)→перевірка активності виділених сполук→очищення→структурний аналіз сполук→аналіз ефективності умов культивування→оптимізація культивування→тест на

ефективність, токсичність, процедуру застосування тощо→потенціальна оцінка нового препарату→розробка патенту.

Серед різноманіття біохімічних адаптацій до чинників водного середовища є перебудова ліпідного метаболізму [3]. Вивчення цієї проблеми здійснюється на рівні оцінки та пошуку засобів регуляції інтенсивності біосинтезу окремих класів ліпідів, зокрема триацилгліцеролів, як біосировини для енергоносіїв. У водоростево-паливній індустрії нині актуалізувалися два напрямки: 1) збільшення валового вмісту ліпідів у клітинах за рахунок технологічних маніпуляцій та використання регуляторів біосинтезу і накопичення ліпідів; 2) спрямована регуляція біосинтезу окремих класів ліпідів – компонентів потенційних біопалив (нейтральних ліпідів, вищих жирних кислот тощо) [1].

Враховуючи зазначені підходи нами розроблена технологія підвищення вмісту ліпідів та їх окремих фракцій шляхом спрямованої регуляції ліпідного обміну у *Chlorella vulgaris* Beij., яку культивували в середовищі Фітцджеральда в модифікації Цендера і Горхема № 11, що містив 0,058 мг/дм$^3$ $Mn^{2+}$ і 0,023 мг/дм$^3$ $Zn^{2+}$ (22-250С, 2500 лк протягом 16 год/доба). В експериментальних умовах у середовище культивування додавали дизельне паливо (Л-02-62, ГОСТ 305-82) в кількості 0,1; 0,5; 1,0 мг/дм$^3$, а також водні розчини солей $MnSO_4$, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, $Pb(NO_3)_2$ у розрахунку на кількість іонів: $Mn^{2+}$ − 0,1; 0,2; 0,5 мг/дм$^3$; $Zn^{2+}$ – 1,0; 2,0; 5,0 мг/дм$^3$; $Cu^{2+}$ − 0,001; 0,002; 0,005 мг/дм$^3$, $Pb^{2+}$ – 0,1; 0,2; 0,5 мг/дм$^3$. Період інкубації культури водорості зі зазначеними речовинами становив від 0,083 год до 168 год при вивченні кінетики поглинання іонів металів клітинами хлорели та 1, 3, 7 діб при дослідженні структурних і метаболічних показників клітин. У контролі клітини росли в поживному середовищі без присутності солей металів у експериментальних кількостях та дизельного палива (ДП). Виявлено, що поглинання $Mn^{2+}$, $Zn^{2+}$, $Cu^{2+}$ та $Pb^{2+}$ є концентраційно- і часо-залежним процесом, який носить флуктуаційний характер, має 4 етапи за дії досліджених чинників: самоізоляція (стрес-реакція) клітин, активне поглинання металів, пригнічення поглинання, відновлення неконтрольованого поглинання. Поглинання $Mn^{2+}$, $Zn^{2+}$, $Cu^{2+}$ та $Pb^{2+}$ клітинами хлорели відбувається за змішаним типом інгібування та визначається спорідненістю метал-зв'язуючих компонентів мембран та цитоплазми, після насичення центрів зв'язування іонів металів поглинання стає нерегульованим клітиною (за дії $Mn^{2+}$ – 48-168 год, $Zn^{2+}$ – 3-72 год, $Cu^{2+}$ – 24-72 год, $Pb^{2+}$ – 24-168 год). Процес поглинання металів є енергозалежним лише за вказаних проміжків часу: $Mn^{2+}$ – 0,25-0,5; 24-72 год, $Zn^{2+}$ – 0,5-3; 12-24 год, $Cu^{2+}$ – 0,5-0,75; 1-3; 6-24 год, $Pb^{2+}$ – 1-3 год. При цьому біосинтез ліпідів у *Chlorella vulgaris* Beij. за дії іонів металів залежить від природи металу, рівня токсичності (для $Cu^{2+}$ і $Pb^{2+}$), біологічної ролі в клітині та механізму дії. Іони металів сприяють накопиченню загального вмісту ліпідів та посиленню інтенсивності біосинтезу їх окремих класів. Біотехнологічно-ефективними для накопичення ліпідів водоростями є вплив: $Mn^{2+}$ (0,2 мг/дм$^3$, 3 доби) збільшує вміст загальних ліпідів на 47%, $Zn^{2+}$ (5 мг/дм$^3$, 7 діб) – на 15%, $Cu^{2+}$ (0,002 мг/дм$^3$, 3 доби) – на 33%, $Pb^{2+}$ (0,5 мг/дм$^3$, 7 діб) – на 32% порівняно з контрольними показниками. Встановлено, що за культивування хлорели з дизельним паливом (0,1 мг/дм$^3$) загальний вміст ліпідів зростає на 72-113%, проте інтенсивність біосинтезу триацилгілцеролів і диацилгліцеролів пригнічується. Включення 14С-ацетату в фосфоліпіди зростає. Виявлені перебудови ліпідного обміну в хлорели за дії дизельного палива можна розглядати як стан метаболічного стресу.

Встановлено, що вміст хлорофілів *a* і *b* за дії $Mn^{2+}$ і $Cu^{2+}$ знижується, за дії $Zn^{2+}$ і $Pb^{2+}$ збільшується їх кількість, а за наявності у середовищі культивування дизпалива (0,1 мг/дм$^3$) протягом першої доби дії цей показник збільшується та з продовженням терміну культивування водорості до 7 діб значно знижується (хлорофіл *a* і *b* на 18% і 14% відповідно порівняно з контрольними показниками). Зі збільшенням кількості хлоропластів їх лінійні

розміри суттєво зменшуються, особливо за дії 5,0 мг/дм$^3$ $Zn^{2+}$ (7 діб) і 0,1 мг/дм$^3$ дизпалива (1 доба) та зменшується їх здатність до біосинтезу ліпідів, особливо за дії 0,5 мг/дм$^3$ $Pb^{2+}$ (1 доба). При цьому вміст окремих класів ліпідів у клітинах хлорели, в основному триацилгілцеролів, за дії $Zn^{2+}$, $Pb^{2+}$ та дизельного палива зростає, а біосинтез адаптивних форм ліпідів, що беруть участь у формуванні токсикорезистентності клітин, активується в ендоплазматичному ретикулюмі. Вміст ліпідів у цитоплазматичній фракції менший, ніж в хлоропластах на 41%, що узгоджується з загальним уявленням про переважну локалізацію біосинтезу ліпідів у хлоропластах. Вміст ліпідів у цитоплазматичній фракції і хлоропластах за дії іонів металів залежить від специфіки їх дії. $Zn^{2+}$ (5,0 мг/дм$^3$, 7 діб) практично не змінюють загальний вміст ліпідів, а $Pb^{2+}$ (0,5 мг/дм$^3$, 1 доба) збільшують вміст ліпідів порівняно з контролем на 44% в цитоплазматичній фракції. При цьому вміст ліпідів у хлоропластах порівняно з контролем практично не змінився.

У зв'язку з різним механізмом дії досліджених речовин змінюється як інтенсивність біосинтезу ліпідів в цілому в досліджених фракціях, так і їх окремих класах. Тому, оцінюючи відповідь клітин водоростей на дію чинників за валовим вмістом ліпідів не достатньо об'єктивно. Більш інформативним є вміст їх окремих класів в клітинних фракціях, оскільки цей показник відображає локальну участь окремих класів ліпідів в забезпеченні адаптивних структурно-функціональних перебудов у клітинних структурах, перш за все, в клітинних мембранах. У хлоропластах знижується утворення необхідних адаптивних ліпідів як за кількісним, так і за якісним складом. Крім того, деякі речовини, наприклад, $Pb^{2+}$ і ДП, суттєво змінюють їх кількість і розміри, викликаючи деградацію. У зв'язку з цим біосинтез необхідних адаптивних форм ліпідів активується і в інших клітинних структурах, насамперед, ендоплазматичному ретикулюмі [6, 7].

Виявлено, що субстратами для біосинтезу ліпідів за дії досліджених іонів металів та дизельного палива є гліцерол-3-фосфат, утворений у результаті фосфорилювання гліцеролу, та ацил-КоА, утвореного з амінокислот. Забезпечення енергією біосинтезу ліпідів у хлорели в середовищі з іонами металів відбувається завдяки активації циклу Кребса, про що свідчать зростання активності 2-оксоглутаратдегідрогенази (на 5% і 35% за дії Zn2+ і Cu2+ відповідно) та сукцинатдегідрогенази (у 2,8-5,6 раза за дії усіх досліджених іонів металів).

**Література:**


1. Aullon Alcaine A. Biodiesel from microalgae / A. Aullon Alcaine. – Stockholm (Sweden), 2010. – 92 p.
2. Campbell M.N. Biodiesel: algae as a renewable source for liquid fuel // Guelph Engineering J. – 2008. – № 1. – P. 2–7.
3. Grubinko V.V., Gorda A.I., Bodnar O.I., Klochenko P.D. Metabolism of Algae under the Impact of Metal Ions of the Aquatic Medium // Hydrobiol. J. – 2011. – Vol. 47, № 6. – P. 75–88.
4. Handbook of microalgal culture. – New York: Wiley Blackwell, 2003. – 584 p.
5. Harnedy P.A., Fitz A., Gerald R.J. Bioactive proteins, lipids, peptides and amino acids from microalgae // J. Phycol. – 2011. – Vol. 47. – P. 218–232.
6. Lutsiv A. I., Grubinko V. V. *Localiztion of the Lipids' Synthesis in Chorella vulgaris* under the Impact of Lead and Zinc Ions and Diesel Fuel // Hydrobiol. J. – 2012. – Vol. 48, № 6. – P. 95–106.
7. Rozentsvet O.A., Bosenko E.S., Guschina I.A. Effect of heavy metals upon lipid metabolism in *P. perfoliatus* // 16th Intern. Plant Lipid symposium. Budapest, Hungary, 1-4 June 2004: Oral and poster presentations. – Budapest, 2004. – P. 202–204.

**Довгий А.В., Леб'як М.М., Новіков В.П.**
Національний університет «Львівська політехніка», кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології, МОН України, Львів, Україна

## ЗАСІБ ПРОТИ КЛІЩІВ «ВАРОТОКС-R5»

*Is a systemic preparation of a selective type of action against bee mite. The product is a composite blend of natural origin – organic derivatives of carboxylic acids. The mechanism of action is selective, belongs to the class of acaricide.*

В теперішній час серед бджіл дуже розповсюджений кліщ *Varroa Jacobsoni*, який призводить до їх загибелі. В боротьбі з кліщем застосовують мурашину кислоту, медичні препарати, наприклад, антибіотики. При використанні антибіотиків частина з них потрапляє в мед, як домішки. Такий мед згідно стандартів ЄС не дозволяється використовувати.

Ми поставили собі за мету розробити препарат органічного походження, який буде ефективним проти кліща і водночас не буде накопичуватись в меді.

Нами розроблено новий засіб «ВАРОТОКС-R5», який використовують при діагностиці та лікуванні *Varroa Jacobsoni* для медоносних бджіл. для сильних бджолиних сімей, які займають декілька гніздових корпусів використовують 4 мл засобу «ВАРОТОКС-R5» поміщаючи його в чашку Петрі в підрамковий простір у вулик на 24-72 год. Слабкі бджолосім'ї. відводки та молоді робочі бджоли отримають 2,5-4 мл засобу «ВАРОТОКС-R5» на 25-120 год.

«ВАРОТОКС-R5» вносять у вулики, в яких медоносні бджоли уражені кліщем *Varroa Jacobsoni,* або для перевірки ураження бджолосімей. Препарат не є токсичним для бджіл та людей, має виражену фунгіцидну дію. Загибель паразита складає 100%. Механізм дії полягає в тому, що компоненти препарату включаються в біохімічні процеси кліщів, блокують життєво важливі центри, що призводить до їх загибелі.

Ефективність препарату базується на тому, що він не викликає резистентності мікроорганізмів, не накопичується в організмі бджіл, що підтверджено хроматографічним методом. таким чином у виробництво закладається екологічно чиста і безпечна технологія, покращується якість продукції, що випускається

**Джамбек О.А., Джамбек О.І., Блайда І.А., Васильєва Т.В., Слюсаренко Л.І.**
Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, Одеса, Україна

**Dzhambek A. A., Dzhambek O. I., Blayda I. A., Vasyleva T.V., Slyusarenko L.I.**
Odessa National University, Odessa, Ukraine

## ЕЛЕКТРОХІМІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОЦЕСУ БІОВИЛУГОВУВАННЯ ВІДВАЛУ ВУГЛЕЗБАГАЧЕННЯ У СКЛАДІ ПОРИСТОГО ЕЛЕКТРОДА

## ELECTROCHEMICAL RESEARCH OF PROCESS OF BIOLEACHING OF COAL-CONCENTRATING DUMP IN A COMPOSITION OF POROUS ELECTRODE

*Проведено электрохимическое исследование процесса биовыщелачивания отвала углеобогащения в составе пористого электрода в минеральных растворах. Исследования проводили в потенциодинамическом и потенциостатическом режимах. Скорость процесса биовыщелачивания определяли по изменению емкости электрода и концентрации ионов $Fe^{2+}$ в минеральном растворе.*
*Установлено, что процесс биовыщелачивания в потенциостатическом режиме протекает с более высокой скоростью и глубже, чем – в потенциодинамическом. Скорость биовыщелачивания при потенциале 0,25 В возрастает в ~ 3-4, а суммарная конечная концентрация ионов $Fe^{2+}$ и $Fe^{3+}$ - в ~ 1,5 раза.*

*Electrochemical research of process of bioleaching of coal-concentrating dump in a composition of porous electrode in a mineral solution has been carried. The research was carried in the potentiodynamic and potentiostatic modes. The speed of process of bioleaching was determined by the change of the electrode capacitance and the concentration of ions $Fe^{2+}$ in a mineral solution.*
*It was defined that process of bioleaching in a potentiostatic mode proceeds with higher speed and more deeply, than in a potentiodynamic one. The speed of bioleaching at potential of 0,25 V increasing in ~ 3-4 times, and total final concentration of ions $Fe^{2+}$ and $Fe^{3+}$ - in ~ 1,5 times.*

Проведені раніше [1-2] потенціодинамічні і потенціостатичні дослідження процесу біовилуговування відвалів вуглезбагачення суспендованим методом, передбачали вивчення окислювально-відновних процесів, які протікають тільки в розчині мінеральних компонентів. При даному методі досліджень утруднений підхід електронів до частинок відвалу. Викликало інтерес вивчення окислювально-відновних процесів, які протікають при біовилуговуванні як на поверхні відвалу у складі пористого електрода, так і у розчині при стаціонарному і заданому потенціалах.

З цією метою для досліджень були виготовлені пористі електроди на основі червоного зразка відвалу з додаванням гідрофільної ацетиленової сажі (15 % мас.). Електроди виготовляли пресуванням гідрофобізованих активного та запираючого шарів з струмовим колектором. Активний шар електродів містив до 34 мг/см$^2$ червоного зразка відвалу.

Електрохімічні дослідження проводили в потенціодинамічному і потенціостатичному режимах на потенціостаті ПИ-50-1.1 в триелектродній електрохімічній ячейці в мінеральних розчинах при температурі 30$^\circ$С в атмосфері повітря протягом 14-15 діб. Як мінеральні розчини для вилуговування використовували: 0,1н $H_2SO_4$ (I); поживне середовище (II). Склад поживного середовища був такий, г/л: $(NH_4)_2\ SO_4$ – 3,0; KCl – 0,1; $K_2HPO_4$ – 0,5; $MgSO_4$ – 0,5; $Ca(NO_3)_2$ – 0,01; $FeSO_4$ – 2,5; 0,001н $H_2SO_4$; pH ≤ 1,6÷1,7.

Методика випробувань включала: визначення окислювально-відновного потенціалу системи у відсутності навантаження перед зняттям *I-E* кривих; зняття *I-E* кривих при розгорненні потенціалу від стаціонарного в катодну або анодну область в залежності від визначуваного іону два рази на добу для потенціодинамічного режиму; проведення розряду в потенціостатичному режимі при потенціалі 0,25 В (електрод порівняння Ag/AgCl) і зняття *I-E* кривих перед і після розряду. Оптимальний режим зняття *I-E* кривих: інтервал потенціалів -0,05÷1,0 В; швидкість сканування потенціалу 20 мВ/с.

Визначення окислювально-відновного потенціалу поверхні електрода на основі відвалу для 0,1н $H_2SO_4$ показало, що на початку експерименту його величина, яка визначається співвідношенням $Fe^{2+}$/ $Fe^{3+}$, склала 0,36 В. Ця величина вказує на перевагу іонів $Fe^{2+}$, які утворюються при термічній обробці електродів у присутності відновника – ацетиленової сажі. При цьому окислювально-відновний

потенціал у розчині на початку експерименту склав 0,45 В, що обумовлено наявністю іонів $H^+$. В процесі експерименту після 5 діб вилуговування окислювально-відновні потенціали поверхні електрода і в розчині зближаються, і визначаються концентрацією іонів $Fe^{3+}$ у розчині, які утворюються у результаті окиснення $O_2$ повітря іонів $Fe^{2+}$, що перейшли до розчину з поверхні відвалу. Величина окислювально-відновного потенціалу наприкінці експерименту, яка визначається рівноважною концентрацією іонів $Fe^{3+}$, склала 0,52 В. При проведенні вилуговування для даної системи в потенціостатичному режимі максимальне значення окислювально-відновного потенціалу 0,61±0,05 В на поверхні електрода досягає на 7 добу, а в розчині – на 13. Надалі значення потенціалів зближаються і наближаються до 0,52 В. Різний час досягнення максимального значення окислювально-відновного потенціалу обумовлено більш глибоким протіканням процесу вилуговування на поверхні електрода. Для поживного середовища окислювально-відновний потенціал як на поверхні електрода, так і у розчині визначається концентрацією іонів $Fe^{2+}$, що входять до його складу. Максимальне значення 0,54±0,05 В досягає на 13-14 добу і надалі знижується до 0,52 В.

На кривих залежності ємності процесів окиснення іонів $Fe^{2+}$ і відновлення $Fe^{3+}$, що входять до складу відвалу, від часу вилуговування спостерігається максимум, пов'язаний з повільним промоканням електрода у перші 3 діб. Надалі спостерігається монотонне зниження ємності, викликане переходом до розчину іонів $Fe^{2+}$ і $Fe^{3+}$. За час робочого дня ємність при розгорненні потенціалу від стаціонарного в катодну область зростає, а в анодну – знижується. Це пов'язано з тим, що з часом з поверхневих шарів електрода іони $Fe^{2+}$ переходять до розчину, і процес відновлення іонів $Fe^{3+}$ протікає в більш глибоких шарах електрода. Так, по даним залежності концентрації іонів від часу вилуговування сумарна концентрація іонів $Fe^{2+}$ і $Fe^{3+}$ монотонно зростає на протязі експерименту від 0 до $4{,}8\cdot10^{-2}$ г/л.

За результатами досліджень в потенціостатичному режимі електрода на основі відвалу у мінеральному розчині 0,1н $H_2SO_4$ характер кривих залежності ємності від часу вилуговування аналогічний кривим для потенціодинамічного режиму. Після проведення розряду при 0,25 В ємність процесу відновлення іонів $Fe^{3+}$ протягом робочого дня знижується практично до нуля, а процесу окиснення іонів $Fe^{2+}$ - зростає у ~ 2 рази. На протязі всього процесу вилуговування спостерігається поступове зниження ємності перед і після розряду. У відмінність від потенціодинамічного режиму, при якому максимальна сумарна концентрація іонів $Fe^{2+}$ і $Fe^{3+}$ ($4\cdot10^{-2}$ г/л) встановлюється на 15 добу, для потенціостатичного режиму – на 4-5 добу. На підставі цього можна припустити, що швидкість вилуговування при потенціалі 0,25 В зростає у ~ 3-4 рази. У той же час сумарна кінцева концентрація іонів $Fe^{2+}$ і $Fe^{3+}$ для потенціалу розряда 0,25 В склала $6{,}8\cdot10^{-2}$ г/л, що у ~ 1,5 рази вище, ніж для потенціодинамічного режиму.

Заміна мінерального розчину 0,1н $H_2SO_4$ на поживне середовище ускладнило визначення ємності процесів $Fe^{2+} \leftrightarrow Fe^{3+}$, які протікають на поверхні електрода при знятті циклічних вольтамперних кривих перед і після розряду при потенціалі 0,25 В. У даному випадку ємність процеса переходу іонів поживного середовища, що знаходяться в порах електрода і приелектродному просторі, по схемі $Fe^{2+} \leftrightarrow Fe^{3+}$ підсумовується з ємністю аналогічних процесів, які протікають на поверхні електрода. При цьому сумарна концентрація іонів $Fe^{2+}$ і $Fe^{3+}$ в розчині (0,54 г/л) залишається незмінною, а іони $Fe^{2+}$ за час експерименту повністю окиснюються до $Fe^{3+}$.

Таким чином, електрохімічні дослідження зразка червоного відвалу у складі пористого електрода і мінеральному розчині 0,1н $H_2SO_4$ показали, що процес вилуговування в потенціостатичному режимі протікає з більш високою швидкістю і глибше, ніж – в потенціодинамічному. Швидкість вилуговування при потенціалі 0,25 В зростає у ~ 3-4 рази, а сумарна кінцева концентрація іонів $Fe^{2+}$ і $Fe^{3+}$ - у ~ 1,5 рази. Поживне середовище, до складу якого входять іони $Fe^{2+}$, ускладнюють вивчення процесу вилуговування, через те що складно визначити концентрацію іонів $Fe^{2+}$ і $Fe^{3}$, які перейшли до розчину з поверхні відвалу.

**Література:**

1. Джамбек А.А., Джамбек О.И., Блайда И.А., Васильева Т.В., Слюсаренко Л.И. Электрохимические исследования процесса биовыщелачивания породных отвалов углеобогащения // Сб. докл. III Междунар. науч.-практ. конф. “Современные ресурсосберегающие технологии. Проблемы и перспективы”. – Одесса, 2015. – С. 13.
2. Джамбек А..А., Джамбек О.И., Блайда И.А, Васильева Т.В., Слюсаренко Л.И. Исследование процесса выщелачивания отвала углеобогащения методом циклической вольтаперометрии // Ж. Комплексное использование минерального сырья. – 2015. - № 4. – С. 54-58.

**Жилкибаев О.Т.**[1], **Мухамадиев** С.Н.[2], **Шоинбекова С.А.**[1], **Бахташ К.Н.**,[1] **Бисенова Н.М.**,[1] **Сагындыкова С.З.**[1]
[1]Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Алматы, Казахстан
[2]Казахский НИИ защиты и карантина растений, Алматы, Казахстан

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ СТИМУЛЯТОРОВ РОСТА ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ КАЧЕСТВА СЕЯНЦЕВ ТЯНЬ ШАНЬСКОЙ ЕЛИ *(PICEA SCHRENKIANA)*

*Нами проводятся фундаментальные и прикладные исследования по разработке новых аналоговых отечественных регуляторов роста растений и их внедрению в сельское хозяйство, лесное хозяйство, биотехнологию и охрану окружающей среды. Показано положительное влияние новых регуляторов роста растений ЖОТ-4 на развитие семян и рост сеянцев ели тянь-шаньской (Picea schrenkiana). Результаты экспериментов показали, что применение растворов стимулятора роста положительно влияет на рост сеянцев, а также стимулирует приживаемость сеянцев ели при опрыскивании после всходов. По сравнению с контролем приживаемость культур выше на 8,1%.*

*We carry out fundamental and applied researches to develop new domestic analogues of plant growth regulators and their application in agriculture, forestry, biotechnology and environmental protection. The positive effect of new plant growth regulators ZhOT-4 on the development of seeds and growth of seedlings of spruce of the Tien Shan (Picea schrenkiana) was revealed . The results of the experiments showed that the use of solutions of growth stimulant has a positive effect on the growth of seedlings and stimulates survival of spruce seedlings when spraying after sprouting. Compared with the control survival rate of the cultures above 8.1%*

В одном из ранних Послании Президента страны народу Казахстана (1997г.) говорится: «Символом нашей страны в будущем должны быть не пустыни, а леса». Это должно быть программой действия нынешнего и последующих поколений лесоводов в XXI веке. На сегодня леса занимают всего 4,5% от общей территории республики.

17 мая 2011 года прошелся сильнейший ураган где произошло падение лесных насаждении государственного природного парка «Медеу» и Иле-Алатауского государственного национального природного парка в ущелье Медео на общей площади 480 га в объеме 96 тысяч кубометров. На территории парка «Медео», который относится к г. Алматы, произошло падение 4144 деревьев, в Иле-Алатауском национальном парке повреждено около 90 тысяч деревьев. В основном пострадали главная лесообразующая порода - тянь-шаньская ель, а также сосна обыкновенная, береза повислая. Для восполнения площадей поврежденным ветровалом, необходимо увеличение и воспроизводство здоровых сеянцев сосны в лесопитомниках Иле-Алатауском государственном национальном природном парке. Для этих целей необходимо выращивать достаточное количество высококачественного посадочного материала, от этого в значительной степени зависят продуктивность и устойчивость создаваемых лесных культур.

Поставленные перед лесоводами задачи постепенного перехода лесного хозяйства к непрерывному и неистощительному лесопользованию, повышения продуктивности древостоев и улучшения их качественного состава не потеряли актуальности и в настоящее время. Одним из путей решения проблемы получения высококачественного посадочного материала на питомниках и при проведении комбинированных мер по восстановлению лесов является применение современных экологически безопасных стимуляторов – регуляторов роста природного, химического и биологического происхождения, обладающих росторегулирующей активностью. Поэтому важно совершенствовать агротехнику и повышать выход посадочного материала с единицы площади с помощью современных агротехнических приемов.

Нами проводятся фундаментальные и прикладные исследования по разработке оргигинальных отечественных регуляторов роста и развития растений и их внедрению в сельское хозяйство, биотехнологию и охрану окружающей среды. Целью работы является разработка методов синтеза

высокоэффективных аналогов природных фитогормонов на основе ароматических пропаргиловых пиперидолов, а также проведение лабораторного скрининга и полевых испытаний на рострегулирующую активность в отношении всходов сеянцев ели тянь-шаньской (*Picea schrenkiana*).

Работа выполнена в творческом сотрудничестве кафедры лесных культур с Казахский НИИ защиты и карантина растений, располагающим в то время современной лабораторной базой и в лесопитомниках Иле-Алатауском государственном национальном природном парке. Основные задачи темы – разработать новые технологические приемы при выращивании посадочного материала в лесных питомниках на основе использования современных стимуляторов роста.

В результате исследования показали высокую эффективность применения новых синтезированных производных пиперидолов, которые превышали показатели известного эталона «Агростимулин». Наибольшей активностью обладает ЖОТ-4 и ЖОТ-7, которые повышали всхожесть и рост сеянцев ели, были немного выше эталона.

Таблица 1 - Влияние ЖОТ-4 на рост и развитие *Picea schrenkiana* в лабораторных условиях

| Вариант опыта | Органы растения | Дни учета | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 5 | 10 | 15 | 20 |
| | | Длина, *см* | | | |
| ЖОТ-4 | Хвоя | 0,4 | 0,7 | 1,2 | 1,3 |
| | Крона | 0,2 | 0,6 | 1,0 | 1,2 |
| | Стебель | 0,9 | 1,1 | 1,4 | 1,6 |
| Контроль | Хвоя | 0,4 | 0,6 | 0,9 | 1,1 |
| | Крона | 0,1 | 0,4 | 0,7 | 0,9 |
| | Стебель | 0,8 | 0,9 | 1,1 | 1,2 |

Для обработки семенного материала использовали 0,001% водный раствор ЖОТ-4, протравливанием за 6-9 часов до посева. Посев семян проводили на глубину 1-2 см. Также семена проращивали в лабораторных условиях на чашках Петри на 2-слойной фильтровальной бумаге. Контролем служили семена, предварительно замоченные в воде. Наблюдения вели в течение 20 дней.

Таблица 2 - Влияние ЖОТ-1 на всхожесть семян и высоту сеянцев Тянь-Шаньской ели (*Picea schrenkiana*)

| Вариант опыта | Всхожесть семян, % | Средняя высота сеянцев, *см* |
|---|---|---|
| ЖОТ-4 | 95,8 | 6,3 |
| Контроль | 87,7 | 5,2 |

Воздушно-сухая масса надземной части сеянцев в опытном варианте также превышала контроль (на 16%). Применение ЖОТ-4 обеспечило 95,0% всхожесть семян сосны, а высота сеянцев превышала на 1,3 см контрольные.

Результаты экспериментов показали, что применение растворов стимулятора роста ЖОТ-4 положительно влияет на рост сеянцев, а также стимулирует приживаемость сеянцев ели при опрыскивании после всходов. По сравнению с контролем приживаемость культур выше на 8,1%.

В настоящее время проводятся эксперименты по намачиванию корневой системы 2-3-х летних сеянцев перед посадкой на лесокультурную площадь.

**Литература**

1. Жилкибаев О.Т., Шоинбекова С.А., Курманкулов Н.Б. Синтез 1-метил-4-[3-(нафтилокси)-проп-1-ин-1-ил]-пиперидин-4-олов и их рострегулирующая активность // Современные наукоемкие технологии. – 2013.- № 4. – С. 69-71.
2. Жилкибаев О.Т., Мухамадиев Н.С., Шоинбекова С.А., Серик Г.Б., Куралбаева А.К. Влияние арилоксипропаргиловых пиперидолов на всхожесть, рост и развитие семян тянь-шаньской ели *(Picea Schrenkiana)* // IV Международная научно-практическая конференция «Инновации и технологии в лесном хозяйстве» — ITF-2014, 27–28 мая 2014 г., г.Санкт-Петербург. С. 48.

**Зінченко О[1]., Зінченко В.[1], Пономаренко С.[2]**

[1]Житомирський національний агроекологічний університет, м. Житомир, Україна.
[2]ДП МНТЦ «Агробіотех» НАН і МОН України, Київ, Україна

## ЕКОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ВИРОЩУВАННЯ МІСКАНТУСА ГІГАНТСЬКОГО, КАРТОПЛІ ТА ВІВСА

*Miscanthus giganteus (or napier grass) proves most effective among plant biofuels. This plant on the majority of Ukraine's lands can yield considerably not only because of biomass quantities, but due to the lowest expenditures on its growing. Miscanthus giganteus also contributes to the degraded soil rehabilitations.*

**Постановка проблеми**

Досконалим аргументом впровадження вирощування рослин на енергетичні та промислові цілі є господарювання на виведених з використання сільськогосподарських угідь. На таких ґрунтах можна висаджувати ліс і вирощувати енергетичні рослини. Такі рослини повинні бути не вибагливими до складу ґрунтів, живлення і добрив. Також від них вимагається утворення високого врожаю, який можна було б використовувати у промисловості. Вирощуванням енергетичних рослин на землях виведених з сільськогосподарського використання дасть можливість економити традиційне викопне паливо, за рахунок залучення біомаси до паливно-енергетичного балансу України , зменшити викиди в навколишнє середовище вуглекислого газу. Вирощування рослин такого роду в агросферу могло б становити додаткове джерело доходів для селян, зменшення антропогенного навантаження на довкілля [2].

**Мета і завдання досліджень**

Метою роботи є дослідження впливу обробки посадкового матеріалу біостимулянтами на активність проходження фотосинтезу, приживаності ризомів, показники та врожайність міскантуса гігантського; та нагромадження іонів $^{137}Cs$ рослинами.

**Об'єкти і методика проведення досліджень**

Експериментальну роботу виконували в другій зоні безумовного (обов'язкового) відселення (с. Христинівка Народицького району Житомирської області). Дослід закладено у 6-ти кратній повторності у відповідності з ГОСТом 46,23,74., розміщення повторень у один ярус, варіантів – систематичне. Загальна площа ділянки 195 м$^2$ , площа посівної ділянки 2.5м$^2$ , облікової – 1.5 м$^2$ , схема садіння рослин 0.75 ×0.75 м, глибина садіння ризомів -8-10 см. Ризоми (кореневища) рослини обприскували водними розчинами стимуляторів росту рослин при концентраціях 0,02%.

Визначення агрохімічних показників ґрунту проводили: pH потенціометричним методом; $P_2O_5$, $K_2O$ – за Кірсановим, гідролітичну кислотність – за методикою Капена в модифікації ЦІНАО; легкогідролізований азот – за Корнфілдом, суму увібраних основ ГВК – за Капеном, вміст гумусу – за Тюріним в модифікації ЦІНАО.Вміст $^{137}Cs$ визначали методом гама-спектрометрії на гамма-спектрометрі АК-01С.

Після визначення активності $^{137}Cs$ в грунті і в рослинах, розраховували коефіцієнти переходу $^{137}Cs$ з грунту в рослини міскантуса гігантського.

Визначення коефіцієнту хлорофілу С*% проводили за методикою DPCA (Digital – Photo – Chrom - Analyse) [5].

Поверхня ґрунту задернована, після аварії на Чорнобильський АЕС ділянка не була в сільськогосподарському використанні. Грунт в досліді дерново-середньо підзолистий, супіщаний, глеюватий на водольодовикових відкладах, щільність забрудненн $^{137}$ Cs 27,0 - 35,0 Кі/км$^2$ , або 995 - 1307 кБк / м.$^2$

**Результати досліджень**

Результати досліджень показали, що обробка ризомів регуляторами росту рослин стимулювала активність проходження фотосинтезу, про що свідчить більш високий показник коефіцієнту хлорофілу. Відомо, що рослини для утворення біомаси використовують приблизно 0,4-0,5% сонячної енергії, придатної для фотосинтезу.

Максимальна величина коефіцієнту хлорофілу відмічена у варіантах, де ризоми міскантусу гігантського обробляли розчинами Агростимуліну (71,8) та Регопланту (70,2), на контрольному варіанті – 69,0. Обробка ризомів згаданими вище препаратами сприяла більш високій активності фотосинтезу на протязі всього онтогенезу.

Застосування біотимулянтів дозволило зменшити залежність приживаності ризомів від погодних умов. В контролі - 46,7 , то у варіантах з Емістимом С та Регоплантом, відповідно 60,0 та 73,3%.

Збільшення інтенсивності фотосинтезу при застосуванні біостимулянтів дозволило отримати більш високу урожайність сухої біомаси міскантусу. Обробка ризомів міскантусу регуляторами росту Агростимуліном та Регоплантом дозволила збільшити урожай сухої маси на18,8-25,3%.

В своїх дослідженнях ми вирішили детально вивчити вплив видів біостимулянтів на питому активність фітомаси та коефіцієнт переходу радіоцезію із ґрунту в рослини міскантусу. Як бачимо із даних таблиці 1, накопичення $Cs^{137}$ соломою незначне від 12 до 24 Бк/гк, що пов’язано з біологічними особливостями міскантусу. Необхідно відмітити, що нормативний вміст цезію-137 в дровах 600 Бк/кг. Застосування біостмулянтів практично не вплинуло на коефіцієнт переходу $Cs^{137}$ у стебла міскантусу, його величина змінювалась у тисячних одиницях.

Питима активність в листах перевищувала питому активність в стеблах в 2-4 рази (табл.1). Максимальна активність відмічена у контрольному варіанті – 61 Бк/кг. Застосування біостимулянтів дозволило зменшити питому активність листя, і як наслідок, коефіцієнт переходу $Cs^{137}$. Кратність зниження склала при застосуванні Емістиму С та Регопланту склала 1,7 і 2,5 по Агростимуліну.

Таблиця 1.

Залежність питомої активності листя від виду біостимулянтів, Бк/кг

| № п\п | Варіанти досліду | Щільність забруднення, кБк\м$^2$ | Активність | Коеф. переходу | Кратність зниження |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Контроль | 1221 | 61 | 0,05 | - |
| 2 | Емістим | 1238 | 34 | 0,03 | 1,7 |
| 3 | Агростимулін | 995 | 25 | 0,02 | 2,5 |
| 4 | Регоплант | 1307 | 46 | 0,03 | 1,7 |

Таблиця 2.

Вплив регуляторів росту рослин на вміст нітратів і радіоактивного цезію у бульбах картоплі

| Варіанти досліду | Вміст нітратів | | | | Коефіцієнт переходу $^{137}Cs$ із грунту в бульби картоплі | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1998 | | 1999 | | 1998 | | 1999 | |
| | мг/кг | % до конт. | мг/кг | % до конт. | мг/кг | % до конт. | мг/кг | % до конт. |
| 1. Контроль | 95 | - | 132 | - | 0,32 | - | 0,19 | - |
| 2. Гумат натрію | 75 | -21,0 | 77 | -41,7 | 0,22 | -31,2 | 0,18 | -5,2 |
| 3. Емістим С | 65 | -31,5 | 70 | -46,7 | 0,22 | -37,5 | 0,16 | -15,9 |
| 4. Потейтін | 70 | -26,3 | 75 | -43,2 | 0,21 | -34,4 | 0,13 | -31,6 |

Таблиця 3.

Вплив добрив, регуляторів росту рослин Емістим С і біопрепарату Агробактерина на питому радіоактивність урожаю вівса

| № | Варіанти досліду | Без обробки посівів РРР у фазу трубкування | | Обприскування посівів РРР Емістим С у фазу трубкування | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Питома радіоактивність, Бк/кг | | Питома радіоактивність, Бк/кг | | | |
| | | Зерно | Солома | Зерно | | Солома | |
| | | | | | КЗЗ* | | КЗЗ* |
| 1 | Котроль без добрив | 84 | 362 | 69 | 1,2 | 301 | 1,2 |
| 2 | Ораномінеральні добрива на основі торфу, 3 т/га | 85 | 245 | 54 | 1,6 | 208 | 1,2 |
| 3 | $N_{60}P_{90}K_{120}$ | 57 | 219 | 37 | 1,5 | 130 | 1,7 |
| 4 | Обработка насіння Емістимом С | 69 (-21%) | 298 (-21,4%) | 35 | 2,0 | 165 | 1,8 |
| 5 | Обробка насіння Агробактерином | 88 | 330 | 51 | 1,7 | 290 | 1,1 |

КЗЗ* - кратність зниження забрудненості

**Висновки**

За останні 7 років в межах міжнародного співробітництва «Підтримка українського науково-технологічного центру» проведено комплекс фундаментальних та прикладних досліджень по створенню природних полі компонентних біостимулянтів, які крім регуляторних мають біозахисні та антистресові властивості. Розкрит механізм фізіологічної дії біозахисного ефекту, доведено, що Стимпо і Регоплант активізують синтез малих регуляторних si/miRNA, які є складовими імунної системи рослин в боротьбі з шкідниками, патогенами, в т.ч. нематодами. Розроблені методи виділення із рослин si/miRNA.

В основу цих досліджень покладено відкриття феномену RNA-інтерференції лауреатами Нобілівської премії в галузі фізіологіх і медицини американцями Ендрю Файєр і Крейг Меллоу.

Застосування біостимулянтів сприяє збереженню генетичного потенціалу рослин, зменшенню залишкових кількостей пестицидів і мікотоксинів в продукції, підвищенню стійкості рослин до хвороб, шкідників, стресів, в тому числі блокуванню надходження іонів важких металів і радіонуклідів в рослину завдяки спецефичний si/miRNA. Намит показано що признаки стійкості рослин за впливу біостимулянтів наслідуються і проявляються в другому і навіть третьому поколінні рослин, як домінантний гомозиготний локус без розщеплення. В Україні створено сучасне біотехнологічне виробництво біостимулянтів з біозахисним ефектом.

**Література:**

1. Зинченко В.А. Интродукция культуры Miskantus Sinesis формы “Giganteus” с целью разработки технологии его выращивания для создания энергетических плантаций быстрого оборота. Сб. материалов VII международной научной конференции «Агроэклогические аспекты устойчивого развития АПК» Брянский ГСХА. г. Брянск 2010. С 327-334.
2. Зінченко В.О, Г.М. Мартинюк, О.В. Зінченко, Стефан Піткевич, Гжегож Вішнєвскій. Особливості росту міскантуса гігантеуса в умовах радіоактивного забруднення. Зб. матеріалів V науково-практичної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Наука. Молодь. Екологія - 2009» (27–29травня 2009року). Житомир. С.138-140
3. Пономаренко С.П. Підвищення рівня утилізації $CO^2$ має стати реальністю на ланах України. Сб.IXМіжнародної науково-практичної конференції daRadostim “Фітогормони,гумінові речовини та інші біологічно активні сполуки для сільського господарства, здоровя людини і охорони навколишнього середовища ” Львів,7-10 жовтня 2013р. -С. 121-127.
4. Nowik. Die Digitial – Photo – Chrom – Analyse (DPCA) – 1. Radostim – Seminar, Chemnitz, 22 – 23.04/2004 (Tagungsband)
5. Ana B. Mendoza-Soto, Faderico Sanchez, Georgina Hermandez. MicroRNAs as regulators in plant metal toxicity response. Frontiers in plant science, mini review article, May 2012, Volume 3, Article 105, p. 1-6.

**Зінченко В.О.[1], Зінченко О.В.[1], Вовк О.О.[2], Новік В.[3]**
[1]Житомирський національний агроекологічний університет,Україна
[2]ТзОВ «ЕКО – ГУМАТ, Рівненська обл., Городок, Україна
[3]daRostim – Приватний інститут прикладної біотехнології, Ліхтенштейн, Германія

## ЕФЕКТИВНІСТЬ РІДКИХ ОРГАНІЧНИХ ДОБРИВ ЕКО-ГУМАТ В РОСЛИННИЦТВІ

*To the optimum application and dosage fertilization of humic fertilizer EKO-HUMAT on the annual (winter wheat, rape, nut) and perennial (Miscanthus × giganteus) plants.*
*The efficiency of the application of phytohormones of humin nature has been established when reproducing Miscanthus giganteus by green sprout parts. The better sprout rooting was fixed when we used the preparations of 0.02% concentration in the early terms of the experiment laying out. Low preparation concentrations (0.01-0.005) were effective under later terms of the selection of sprouts from the 2nd internodes of maternal plants with the height of 310-340 cm*

**Вступ.** На сьогоднішній день в Україні гостро стала проблема забруднення і деградації земель, руйнування поверхневого шару ґрунту, насиченість у ньому шкідливих для людей техногенними речовинами, тому екологічна роль гумінових речовин в біосфері дуже велика і включає в собі таку важливу складову як участь в стабілізації порушеної техногенними факторами рівноваги в екосистемах[1, 2].

**Метою** дослідження є створення екологічно безпечних технологій вирощування сільськогосподарських культур з використанням гумінових добрив «ЕКО-ГУМАТ»

**Матеріали і методи.** З метою вивчення впливу органо-мінерального добрива Еко-Гумату був закладений виробничій дослід на території АОЗТ «Майское» Синельниковського району Дніпропетровської області на культурі нуту, АФ«Дар» Вінницької області на культурі озимої пшениці сорту Солоха, фермерського господарства «Істок» Акимовського району Запорізької області. Еко-Гумат вносили по вегетуючим рослинам у розрахунку 1,5 л/га, при обробці насіння – 200мл/тонна з експозицією 10 годин. Дослідження закономірностей росту і розвитку живців міскантуса проводиться в контейнерах в п'ятикратній повторності за схемою: 1. Контроль (вода) 2. Еко-Гумат – 0,02% 3. Еко-Гумат – 0,01% 4. Еко-Гумат – 0,005%. Робочі розчини готувалися безпосередньо перед закладанням досліду. Відрізки стебел вирізали з маточних рослин 3-го року вегетації на рівні 1-го та 2-го міжвузлів. Для досліду використовували добре розвинені маточні рослини висотою 330-340 см, які мали не менше 9-10 міжвузлів.

**Результати**. В проведених дослідженнях з нутом при обприскуванні посівів Еко-Гуматом в дозі 1,5 л/га у фазі 3-5 листків в бакової суміші з інсектицидом «Сеперкил» відмічено збільшення кількості бобів у розрахунку на одну рослину з 28 до 35 штук, а масу 100 бобів з 30 до 45 грамів. Приріст врожаю у порівнянні з контролем складав 0,8 ц/га або 20,7%.

При передпосівній обробці насіння озимої пшениці препаратом врожайність збільшилася на 4 ц/га, натурна вага – з 730 до 750 г, кількість сирої клітковини – з 24 до 26% у порівнянні з контролем. Обприскування посівів озимого ріпаку Еко-Гуматом сприяло збільшенню висоти рослин на 21 см, кількості бічних паростків з 0,69 до 3,2 шт., ваги зеленої маси з 307 до 717 г, а кореневої частини з 45 до 103 г на одній рослині. Приріст врожаю склав 11%.

В дослідженнях з використання розчинів Еко-Гумату при размножении мискантуса живцами максимальний ефект спостерігався при використанні концентрації 0,02% в дослідах, які були закладені 24.06.2014. Необхідно відмітити, що живці, отримані з першого

міжвузля у порівнянні з живцями, які отримані з 2-го міжвузля, раніш утворювали коріння та пагони та вони були більш розвиненими.

При наступному закладанні досліду через 11 днів (4.07.2014) спостерігалося більш інтенсивний розвиток кореневої системи та пагонів, особливо у живців, які були отримані з 2-го міжвузля.

Після висаджування укорінених живців в грунт схожість в контролі (вода) – 1-ше міжвузля – по всіх строках складало 60%, в той же час живці, які замочувались в розчинах Еко-Гумату ( в концентрації 0,02-0,01%) показали майже 100% приживаність на перших строках садіння. Через 1 місяць вегетації після висаджування в грунт найбільш розвинутими були рослини із живців1-го міжвузля, які були оброблені розчинами Еко-Гумату в концентрації 0,02-0,01% на ранніх строках посадки (53,8-67,7 см, 6,4-6,7 листків), в той же час при більш пізніх строках висадки в грунт ці ж самі концентрації мали негативну дію (0-24,5 см, 0-4 листки). Аналогічні дані отримані і при садінні живців, отриманих з 2-го міжвузля.

В дослідах 2015 року простежується така ж тенденція приживаності рослин, отриманих з живців, як у попередньому році, тобто на ранніх стадіях отримання живців стабільні результати відмічені при використанні І-их міжвузлів, а на більш пізніх – із других міжвузлів. Спостереження за впливом препаратів гумінової природи на морфологічні показники розвитку живців показали, що умови 2014 року були більш сприятливими у порівнянні з 2015 роком

Хоча рослини, отримані з живців у 2015 році відрізнялися меншою висотою у порівняння з рослинами 2014 року, але вони мали більшу облиствленість у порівнянні з рослинами аналогічного строку садіння 2014 року як з першого так із другого міжвузля. Необхідно також відмітити, що нетипові погодні умови літа 2015 року спонукали рослини міскантуса до адаптації шляхом утворення додаткових пагонів під впливом дії гумінових препаратів. В середньому на 50 день кількість погонів у одній купині складала від 1,3 до 2,7 на кінець вегетації ( до перших приморозків на початку жовтня). Спроба прослідити можливість отримання живців з міжвузлів послідуючих порядків (ІІІ-го, ІV-го ) показала недоцільність використання для живцювання міжвузлів ІV-го порядку і значно нижчу продуктивність при використанні живців ІІІ-го порядку у порівнянні з досліджуваними раніше.

**Висновки**

1.Застосування Еко-Гумату покращує умови росту однорічних рослин (нут, оз. пшениця, оз. ріпак), що впливає на їх висоту і формування найвищого врожаю.

2. Виявлено, ефективність застосування Еко-Гумату при розмноженні міскантуса гігантського шляхом живцювання частинами пагону ( розмноження саджанцями з укорінених міжвузлів). Концентрація поживного розчину препаратів гумінової природи та використане міжвузля знаходяться в залежності від стадії розвитку (фази) маточної рослини і часу висадки у відкритий грунт.

**Література:**

1. Зінченко В. О. Екологічні аспекти вибору комплексного гумінового добрива /А.П.Войцицький, В.П.Кусайло, В.А.Трембіцький // Екологія: Пробл. адаптивно-ландшафтного землеробства: Доп. учасн. Міжнар. конф., 16-18 черв. 2005р. - Житомир, 2005. – С. 194-197.
2. Христева Л. А. Действие физиологически активних гуминовых кислот на растения при неблагоприятных внешних условиях //Гуминовые удобрения. Теория и практика их применения. – Днепропетровск: ДСХИ, 1973. – Т.IV. – С. 5-23.

**Іваніца В.Ю.**
Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, Одеса, Україна

## ДОСЛІДЖЕННЯ ПОЛІФУНКЦІОНАЛЬНИХ КОРИСНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ *LACTOBACILLUS PLANTARUM* ONU 12

*Analysis antagonistic properties, the effects on the germination and development of important crops the strain Lactobacillus plantarum ONU 12 had carried out.The strain L. plantarum ONU 12 has shown high antimicrobial effect in vitro against 7 reference strains and opportunistic pathogenic microorganisms. The positive effect of the studied strain on morpho- and rhizogenesis of cruciferous and cereal seedlings has been established. The strain could be recomended for create on its basis a biopreperation of complex actions, which would be used for pre-treatment of seeds watercress and wheat, for the realization of genetically determinated plant productivity and protection from phytopathogens.*

Вражаючи різноманітні сільськогосподарські культури фітопатогенні бактерії знижують врожайність, погіршують якість продукції, сприяють передчасній загибелі рослин. Наразі найбільшим попитом для захисту рослин користуються пестициди[1]. Але як токсичні агенти вони негативно впливають на агробіоценози. Іншою серйозною проблемою пов'язаною з вирощуванням продуктів харчування, є погіршення родючості ґрунтів, а також забруднення навколишнього середовище через застосування мінеральних добрив. Усуваючи цю проблему, щоб отримати більш високі врожаї, фермери стають все більш залежними від хімічних джерел азоту і фосфору [4]. Агробіотехнологія дає змогу вирішити дані проблеми, за допомогою мікробних біопрепаратів комплексної дії. Перспективним мікроорганізмом для створення экологічно безпечних біопрепаратів, є *Lactobacillus plantarum*. Даний вид широко застосовується у терапевтичних цілях в якості пробіотика, має статус GRAS [5], та здатен продукувати
речовини з антимікробною та рістстимулювальною активностями [2, 3].

Метою роботи було випробування *L. plantarum* ONU 12 в якості кандидата для створення на його основі біопрепарату комплексної дії, який би використовувався для передпосівної обробки насіння крес-салату та пшениці.

Матеріали та методи**.** Об'єктами дослідження були штам бактерій *L. plantarum* ONU 12. Штами УПМ: *Agrobacterium vitis* MR1 (ОНУ), *Agrobacterium vitis* UA6 (ОНУ), *Agrobacterium vitis* 379, *Agrobacterium rhizogenes* 15834 (колекція мікроорганізмів Російського Аграрного Інституту, Росія), *Agrobacterium tumefaciens* C58, *Erwinia carotovora* ZM1, *Ralstonia solanacearum* B-1109-UCM (колекція культур Інституту мікробіології та вірусології ім. Д.К.Заболотного, Київ), насіння крес-салату сорту Ажур, насіння пшениці сорту Дунай.

Для виявлення антогоністічних властивостей *Lactobacillus plantarum* ОНУ 12 *in vitro* використовувався метод дифузії в агарових лунках (well diffusion method). Для експерименту були взяті добові культури *Lactobacillus plantarum* ОНУ 12. Перед внесенням у лунки значення pH культуральної рідини *Lactobacillus plantarum* були доведені до 7 ± 0,5 од. pH за допомогою NaOH. Після висіву бактерій на чашки Петрі, вони були поміщені в термостат на 24 години при 37 °C.

Дослідження ріст-стимулюючої активності штаму *L. plantarum* ОНУ 12 проводили на хрестоцвітих та тонконогових. У якості тест-рослин було обрано крес-салат та пшеницю.

Насіння крес-салату і пшениці (по 50 у кожному варіанті досліду) стерилізували перекисом водню (25%) протягом 1 хв, потім промивали тричі у стерильній дистильованій воді і обробляли суспензіями бактерій штаму *L. plantarum* ONU 12, які вирощували добу у середовищах різного складу. Добові агарові культури засівали в рідкі поживні у

пеніцилінових флаконах об'ємом 10 мл. Концентрацію бактерій визначали за допомогою спектрофотометричного методу з використанням спектрофотометра BioRad Smart Spec. Через 5 днів враховували середню довжину стебел і коренів паростків і обчислювали конфіденційний інтервал (95%). Дослідження проводили у трьох незалежних експериментах по 50 насінин у кожному варіанті. Значимі відмінності між контролем і обробленими варіантами оцінювали у t-тесті ($p < 0.05$). Для розрахунків та побудови графіків використовували програмне обладнання "MicrosoftExcel".

Результати та їх обговорення**.** Дослідження антагоністичної активності штаму *L. plantarum* ОНУ 12 показало, що він проявляє інгібувальну дію на всі тест-штами фітопатогенів і УПМ.

Так слабку антагоністичну активність (зона затримки росту до 7 мм) *L. plantarum* ОНУ 12 виявив до *A. vitis* MR1 (ONU), *A. vitis* UA6 (ONU), *Erwinia carotovora* ZM1, *Ralstonia solanacearum* B-1109-UCM.Помірну антагоністичну активність (зона затримки росту до 13 мм) – по відношенню до *A. tumefaciens* C58, *A. vitis* 379, *A. rhizogenes* 15834.

Обробка насіння тест-рослин бактеріями штама *L. plantarum* ОНУ 12, вирощеними на середовищах різного складу, призводило до покращення їх проростання. При культивуванні *Lactobacillus plantarum* ОНУ 12 у живильному середовищі до складу якого входили: дріжджовий екстракт, МПБ, пептон, глюкоза, казеїн, $MgSO_4$, $MnSO_4$ та подальшій обробці насіння пшениці суспензією лактобацил, було виявлена стимулююча активність штаму на розвиток рослин. Довжина коренів, у порівнянні з насінням що вирощувалось без обробки *L. plantarum* ОНУ 12, була більшою на 34,2%, стебел на 35,3%. При культивуванні *L. plantarum* ОНУ 12 у живильному середовищі до складу якого входили: дріжджовий екстракт, глюкоза, казеїн, цитрат амонію, $CH_3COONa$, $MgSO_4$, $MnSO_4$, $FeSO_4$ та подальшій обробці насіння крес-салату суспензією лактобацил, було виявлена стимулююча активність штаму на розвиток паростків та кореневої системи крес-салату. Довжина коренів, у порівнянні з насінням що вирощувалось без обробки *L. plantarum* ОНУ 12, була більшою на 34,5%, стебел на 42,7%. Якщо порівнювати морфологічні показники у відсотках у порівнянні з негативним контролем – вимочуванням насіння у воді, то відсотки покращення дорівнювали 13,0 – 42,7% у крес-салата і 13,0 – 35,3% у пшениці. Загалом обробки лактобацилами найбільш позитивно відображалися на довжині коренів паростків пшениці – від 23,7 до 34,2%.

Таким чином, показано, що обробка насіння суспензією бактерій *L. plantarum* ОНУ 12 – позитивно впливає на розвиток рослин крес-салату та пшениці на початкових етапах вегетаційного періоду.

**Література**


1. *Рой А.А. и другие* Влияние бактерий рода *Bacillus* на возбудителя бактериального рака томатов// Мікробіологічний журнал.- 2012.- Т.74 (№5).- С.74-80
2. 2.*Соловьева И.В.,* и другие Изучение биологиеских свойств новых штаммов рода *Lactobacillus*// Вестник Нижегородского Университета им.Н.И.Лобачевского.– 2010.– С.35.
3. *GoffinP. etall* Understanding the physiology *of Lactobacillus plantarum* at zero growth // Molecular Systems Biology.-2010.-Vol.6.- P.413
4. *Gupta G., et all* Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Current and Future Prospects for Development of Sustainable Agriculture// J. Microbial & Biochemical Technology.- 2015. Vol. 7 (2).- P.96-102
5. The Food and Drug Administration (FDA) Notice No. GRN 000378. [Електронний ресурс] http://www.fda.gov/Food/Ingredients/Packaging/Labeling/GRAS/NoticeInventory/ucm300511.htm

**Іваниця В.О., Гудзенко Т.В., Горшкова О.Г., Волювач О.В., Бєляєва Т.О., Конуп І.П.**
Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, Одеса, Україна

## КОМПЛЕКСНИЙ БІОПРЕПАРАТ ДЛЯ ОЧИСТКИ ПРИБЕРЕЖНОГО МОРСЬКОГО СЕРЕДОВИЩА ТА ГРУНТУ ВІД ШИРОКОГО СПЕКТРА ЗАБРУДНЮВАЧІВ

*Developed on the basis of non-pathogenic strains of P. fluorescens, P. maltophilia, P. cepacia, B. megaterium - antagonists of pathogenic bacteria to the biological product of complex action. The optimum conditions of cultivation of microorganisms, nutrient medium, sorbents (natural and synthetic type "WII") for the immobilization of cells of microorganisms. The biological product has been successfully tested in the purification of the contaminated sites of soil Zmiinyi island (the degree of purification was 90% when the initial concentration of petroleum products 15-42 g/kg soil) and is suitable for use in an immobilized state on synthetic media like the WII for remediation of coastal marine recreational zone and zone psammocontour contaminated with oil products, synthetic surface-active substances, ions of heavy metals and sanitary indicative of pathogenic and conditionally pathogenic bacteria.*

Сучасним екобезпечним і економічно вигідним способом очистки навколишнього середовища від токсичних хімічних (нафтопродукти, іони важких металів (ІВМ), синтетичні поверхнево-активні речовини (ПАР)) і біологічних забруднювачів залишається біотехнологічний спосіб з використанням біопрепаратів на основі непатогенних штамів мікроорганізмів. Відомі складені на основі монокультур біопрепарати: Путидойл за авт.. свід. № 1076446 (1982), № 1428809 (1988), Біоприн (Олеворин) ТУ 11279895-12-22-92 за авт. свід. № 2014286 (1994), що використовують для очистки води і грунту від органічних забруднень [1, 2]. Основним їх недоліком є окиснення в переважній більшості окремих складових нафти і неможливість здійснення детоксикації забрудненого об'єкта з вмістом ІВМ одночасно. Відомий "Способ микробиологической очистки сточных вод промышленных предприятий от ионов тяжелых металлов: цинка, кадмия и свинца" по Патенту RU № 2216525, опубл. 20.11.2003, Бюл. № 26, згідно з яким очистку води здійснюють за присутності бактеріальної суміші родококів, яка містить шість штамів *Rhodococcus ruber* – ИЭГМ АС 219, ИЭГМ АС 220, ИЭГМ АС 221, ИЭГМ АС 222, ИЭГМ АС 338, ИЭГМ АС 347. Недоліком відомого способу є: використання великої кількості штамів бактерій, що належать до умовно патогенних мікроорганізмів. Вода не очищується від ІВМ, що знаходяться в аніонній формі, від хрому (VI) зокрема.

*Мета роботи* – розробити новий комплексний біопрепарат для очистки прибережного морського середовища та ґрунту від широкого спектра забруднювачів.

*Для досягнення зазначеної мети необхідно було вирішити наступні завдання*: запропонувати у складі біопрепарату ізольовані із природних джерел штами бактерій, які є непатогенними і володіють поліфункціональною дією - деградуючою щодо полютантів органічної природи, сорбційною та акумулюючою по відношенню до ІВМ (хром, свинець, кадмій тощо), антагоністичною щодо найбільш розповсюджених патогенних та умовно-патогенних бактерій; підібрати оптимальні умови культивування мікроорганізмів, склад живильного середовища та екологічно безпечні природні та синтетичні носії для іммобілізації на них клітин мікроорганізмів-деструкторів.

Особливістю біопрепарату, складеного на основі чотирьох біохімічно-активних солестійких штамів бактерій *Pseudomonas fluorescens, Pseudomonas maltophilia, Pseudomonas cepacia*, *Bacillus megaterium*, є його поліфункціональність та виявлення антагоністичної дії по відношенню до біологічних забруднювачів з різновиду найпоширеніших санітарно-показових мікроорганізмів (*B. subtilis*, *M. luteus*, *E. coli* тощо), що розширює межі його

застосування для відновлення рекреаційних морських зон. Синергетично діюча бактеріальна асоціація при виготовленні біопрепарату не потребує додаткових умов аерації, культивується у живильному середовищі з оптимальним співвідношенням Карбону і Нітрогену [3] для продукування екзогенних біосурфактантів. Бактерії іммобілізують на біологічно позитивних носіях - сорбентах природного походження - тирсі, торфі, хітозані, мушлі). Іммобілізація сприяє тривалішій життєздатності мікроорганізмів у природних умовах із збереженням їх поліфункціональної дії щодо забруднювачів різної природи.

Експериментально підтверджено: при використанні асоціації, складеної із суспензій бактеріальних культур *P. fluorescens*, *P. maltophilia*, *P. cepacia*, *B. megaterium,* взятих у однаковому об'ємному співвідношенні, їх поверхневі властивості у спеціально підібраному органо-мінеральному живильному середовищі поліпшуються порівняно з поверхневими властивостями суспензій окремих штамів мікроорганізмів. Емульгувальні властивості супернатантів, оцінені за індексом емульгування ($E_{24,}$ %), високі (~75%).

Отже, розроблено біопрепарат комплексної дії на основі непатогенних штамів *P. fluorescens, P. maltophilia, P. cepacia, B. megaterium* – антагоністів патогенних бактерій. Біопрепарат придатний для очистки води та грунту від нафтопродуктів, іонів важких металів. Підібрано оптимальні умови культивування мікроорганізмів, склад живильного середовища та сорбенти (природні та синтетичні типу "ВІЙ") для іммобілізації клітин мікроорганізмів. Підтверджено ефективність поліфункціональної дії поверхнево-активного біопрепарату на основі синергетично діючої асоціації використаних непатогенних штамів мікроорганізмів для інтенсифікації біотехнологічної очистки прибережних морських вод (з використанням ВІЙ з іммобілізованими на них мікроорганізмами) та ґрунту від широкого спектра забруднювачів. Біопрепарат пройшов успішні випробовування при очистці нафтозабруднених ділянок грунту острова Зміїний (ступінь очистки склав 90% при вихідній концентрації нафтопродуктів 15-42 г/кг ґрунту [4]) і ремедіації рекреаційної прибережної морської зони і зони псамокунтуру, забрудненої нафтопродуктами, синтетичними поверхнево-активними речовинами, іонами важких металів (переважно хромом [5], міддю, цинком) та санітарно-показовими патогенними та умовно-патогенними бактеріями.

**Література**

1. Патент РФ № 231716. Препарат для микробиологической очистки нефтяных шламов и загрязненного нефтепродуктами грунта / Карасева Э.В. та ін. Опубл.: 20.02.2008, Бюл. 5.
2. Патент України № 34894. Препарат "Родойл" для біологічного очищення грунту і води від забруднень нафтою та нафтопродуктами / Дульгеров О.М. та ін. Опубл.: 15.08.2003, Бюл. № 8/2003.
3. Патент України № 102337. Склад поживного середовища для продукування поверхнево-активних речовин нафтоокиснювальними мікроорганізмами / Іваниця В.О., Гудзенко Т.В. та ін. Опубл.: 26.10.2015., Бюл. № 20.
4. Патент України № 102370. Спосіб виготовлення поверхнево-активного біопрепарату / Іваниця В.О., Гудзенко Т.В. та ін. Опубл.: 26.10.2015., Бюл. № 20.
5. Патент України № 102265. Спосіб очищення води від хрому (VI) з використанням мікроорганізмів / Іваниця В.О., Гудзенко Т.В. та ін. Опубл.: 26.10.2015., Бюл. № 20.

**Иутинская Г.А., Белявская Л. А.**
Институт микробиологии и вирусологии им. Д. К.Заболотного НАН Украины, Киев, Украина

## СТРАТЕГИЯ СОЗДАНИЯ ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНЫХ БИОПРЕПАРАТОВ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ НА ОСНОВЕ МЕТАБОЛИТОВ ПОЧВЕННЫХ СТРЕПТОМИЦЕТОВ

*The strategy to creation of new environmentally friendly multifunctional metabolitic bioformulations of the new generation, which combine the properties of biological control of plant pathogens with the ability to activate the plant immunity and optimize their hormonal balance have been substantiated theoretically and confirmed experimentally. Under conditions of bioformulations application the plant resistance to biotic and abiotic stresses enhanced, the yield increases, its quality improves and growth of microorganisms in the root zone is activated.*

Современное сельскохозяйственное производство всё чаще ориентируется на использование экологически безопасных биологических препаратов как для повышения урожая, так для защиты растений от фитопатогенов и вредителей. Основной стратегией создания и производства препаратов нового поколения является направленность их действия на индукцию системной устойчивости растений к биотическим и абиотическим стрессам, включение многоуровневых механизмов адаптивных возможностей растений, что позволяет раскрыть их биологический потенциал, заложенный селекционными методами. Следовательно создание биологических препаратов комплексного действия является актуальным.

Перспективными продуцентами широкого спектра метаболитов для биоконтроля численности фитопатогенов и регуляции роста растений являются почвенные стрептомицеты. В результате широкого скринига нами были выделены высокоактивные антагонисты фитопатогенных грибов, бактерий и нематод. На основе метаболитов этих штаммов созданы новые биопрепараты: Аверком (продуцент *Streptomyces avermitilis* ИМВ Ас-5015), Аверком нова (Аверком + хитозан), Виолар (продуцент *S. violaceus* ИМВ Ас-5027) и Фитовит (продуцент *S. netropsis* ИМВ Ас-5025 ).

Как показали аналитические исследования в составе препаратов обнаружены антибиотики антипаразитарного действия: в Аверкоме и Аверкоме нова – макролидный антибиотик авермектин, в Фитовите – полиеновый, в Виоларе - антрациклиновый. Следует отметить, что эти антибиотики не оказывали влияния на условно-патогенные и патогенные для человека микроорганизмы, что исключает возможность возникновения лекарственной устойчивости при их применении.

Анализируя состав метаболитов, продуцируемых выделенными штаммами, мы обращали внимание, в первую очередь, на те физиологически активные вещества, которые могут быть индукторами приобретённой системной устойчивости растений к фитопатогенам и абиотическим стрессам. Среди биологически активных веществ важная роль принадлежит липидам. Они входят в состав клеточных мембран, являются энергетически выгодным субстратом окисления, проявляют антиоксидантные свойства, участвуют в синтезе антибиотиков и сами проявляют антимикробные свойства. В спектре липидов, содержащихся в метаболитных препаратах, выявлены такие физиологически активные фракции как фосфолипиды, стерины, триглицериды, стеролы. Следует отметить, что липиды обеспечивают текучесть и пластические свойства мембран клеток и клеточных органелл и играют важную роль в процессе жизнедеятельности клетки, а также в защите растений от фитопатогенов.

В состав разработанных биопрепаратов входят также фитогормоны (мкг/мл): ауксины (2,7-12,8), цитокинины (2,0-135,0), гиббереллины (1,0-4,5). В незначительном количестве в продуктах присутствовала абсцизовая кислота (не более 0,03). В последнее время все больше исследователей поддерживают мнение о том, что фитогормоны выступают не только как регуляторы роста и развития растений, но также играют ключеву роль в формировании растительного иммунитета, в частности, в синтезе этилена, салициловой, жасмоновой кислот и др.

Нами впервые обнаружена способность изученных штаммов синтезировать изопреноидные соединения, такие как предшественник стероидов сквален и продукты стероидогенеза – холестерин, эргостерин, ситостерин, стигмастерин, 24-епибрасинолид. Эти соединения входят в состав разработанных нами метаболитных препаратов. Стероиды и их рецепторные комплексы активно участвуют в формировании сети сигнальных липидных систем, влияющих на проявление клеточных реакций растений на патогены, то есть они действуют как индукторы устойчивости.

На клеточном уровне подтверждена способность разработанных биопрепаратов активизировать механизмы резистентности растений. При предпосевной обработке семян яровой пшеницы сорта Гризо исследуемыми биопрепаратами значительно возрастала активность фермента фенилаланинамиак-лиазы (ФАЛ) как на природном фоне, так и на фоне искусственного заражения растений фузариозом. Известно, что ФАЛ катализирует дезаминирование фенилаланина в начале фенилпропаноидного пути синтеза лигнина, фитоалексинов, флавоноидов, кумаровой и коричной кислот, которые участвуют в защитных реакциях растений против фитопатогенов.

Эфффективность защитного действия биопрепаратов от нематод подтверждена в полевых опытах. Так, при выращивании рапса на природном фитогельминтном фоне плотность популяций комплекса паразитических нематод на корнях растений достоверно уменьшалась при действия Аверкома в среднем в 9,8 раз, Аверкома-нова и Виолара - вдвое.

Микробиологический анализ ризосферной почвы растений, обработанных биопрепаратми выявил активизацию развития микроорганизмов, которые играют важную роль в трансформации соединений азота, фосфора и углерода (педотрофные, амилолитические, аммонифицирующие, азотфиксирующие, фосфатмобилизирующие, целлюлозоразрушающие) в среднем в 1,5 – 3,3 раза по сравнению с контролем. Увеличение численности микроорганизмов в корневой зоне растений в условиях применения биопрепаратов можно объяснить как непосредственным их действием на микробиоту, так и опосредованно путем стимуляции развития растений и увеличения количества продуцируемых корневых экссудатов.

Полученные результаты испытаний биопрепаратов в поле и условиях закрытого грунта показали фитозащитное и стимулирующее влияние на растения, что способствовало повышению урожая растений огурцов на 22-26%, пшеницы яровой – на 17%, картофеля – на 10-12%, рапса ярового – в 2,5- 3 раза, капусты пекинской – в 1,5 - 2,2 раза. Одновременно с увеличением урожая улучшались биохимические показатели качества получаемой продукции. Так, в плодах томатов сорта Санька повышалось содержание сухого вещества, сахаров (почти в 1,6 раза), витамина С, β-каротина (почти в 2 раза), а также снижалось содержание нитратов (в 2 - 3 раза). В зерне яровой пшеницы сорта Ранняя 93 по сравнению с контролем возрастало содержание белка (с 12,1 до 15,9%) и клейковины (с 22,8 до 29,5%), повышался класс зерна.

**Калацкая Ж.Н. [1], Ламан Н.А.[1], Минкова В.В.[1], Молчан О.В.[2]**
[1]Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф.Купревича НАН Беларуси, Минск, Беларусь
[2]Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

# ВЛИЯНИЕ ТРЕПЕЛА В СОСТАВЕ КОРНЕОБИТАЕМОЙ СРЕДЫ НА РОСТСТИМУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ИНТРОДУЦИРОВАННОГО БАКТЕРИАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА

*Plant growth promoting effect of introduced bacteria Bacillus subtilis depend on the mineral component composition of growing media. Joint application of the bacterial preparation and rotten-stone caused an increase in biomass of lettuce plants on 44.8% compared with plants grown on bacterized peat substrate without rotten-stone and the length of the lettuce leaves increased by 32,7% and biomass of lettuce leaves increased almost 2.5 times compared with the control.*

Проблема создания биопрепаратов широкого спектра действия, основу которых составляют стимулирующие рост растений бактерии (СРРБ или PGRP – plant growth promoting rhizobacteria) привлекает все большее внимание исследователей [1, 2]. Особое внимание среди СРРБ заслуживают аэробные спорообразующие бактерии рода *Bacillus*, характеризующиеся мощным биосинтетическим потенциалом в соединении с высокой экологической пластичностью, а также технологичностью в применении [3-5]. Известно, что физико-химические характеристики и компонентный состав почвогрунтов оказывают влияние на формирование микробного ценоза. При изменении этих характеристик могут создаваться как благоприятные, так и неблагоприятные условия для активной колонизации ризосферы и приживаемости бактерий и, как следствие, проявления их эффективности как защитных агентов и стимуляторов роста растений. В ряде работ [5, 6] показана эффективность введения в субстраты тонкодисперсной минеральной компоненты - кембрийской глины или смеси кембрийской глины с сапропелем, для формирования органо-минеральных комплексов, которые создают более благоприятную среду для развития и функционирования корневой системы выращиваемых растений с сопутствующей микрофлорой. В настоящее время наиболее изученным для использования в растениеводстве является природный цеолит, который обнаруживает четко проявляемую биологическую активность. Установлена эффективность использования цеолитов в открытом грунте и в овощеводстве закрытого грунта. Он регулирует уровень влажности почвы, способствует процессу оптимизации кислотности почв, уменьшает расход минеральных удобрений, сорбирует подвижные формы радионуклидов и тяжелых металлов, способствует повышению урожайности зерновых и овощных культур, одновременно влияя на качество урожая [8]. В Республике Беларусь имеется природный минерал – трепел, который представляет собой сложное полимерное образование, состоящее из кремнеземистых минералов (35-41%), цеолитов (15-19%), кальцита (15-34%), глинистых минералов (8-20%), терригенного материала (6-7%) [9]. Представляло интерес изучение особенностей роста и развития растений салата листового (*Lactuca sativa var. crispa* L.) сортотипа Батавия, гибрид Афицион на бактеризованных корнеобитаемых средах при добавлении трепела. В почвогрунт, представляющий собой нейтрализованную смесь торфа и перлита был введен биопрепарат Биоактин, штамм М 9/6 спорообразующих бактерий *Bacillus subtilis* в объеме 20 мл/л, проявляющий высокую антагонистическую активность к широкому спектру фитопатогенных грибов и бактерий, титр КОЕ – $2{,}5 \cdot 10^9$/мл, спор – $1{,}8 \cdot 10^9$/мл [10]. В часть бактеризованной торфосмеси добавляли трепел (Хотимское месторождение в Могилевской обл., РБ) в соотношении 2 г минерального сырья на 1 л почвогрунта. Растения салата выращивали под световыми лампами в лабораторных условиях. Анализ морфофизиологических показателей

на 28 день вегетации (техническая спелость, хозяйственная годность) показал, что инокуляция биопрепаратом Биоактин почвогрунта способствовала достоверному увеличению биомассы растений, активному образованию листьев и увеличению их площади. Совместное внесение бактериального препарата и трепела вызвало формирование растений салата с массой розетки листьев на 44,8% больше по сравнению с растениями на бактеризованной торфосмеси без трепела и с массой надземной части в 2,5 раза и длиной розетки на 32,7% больше, чем в контрольном варианте. Включение трепела в бактеризованную торфосмесь положительно отразилось также на развитие корневой системы растений салата. Применение биопрепарата и трепела способствовало увеличению содержания сухой биомассы и суммы фотосинтетических пигментов в растениях практически в 4 и 2 раза соответственно по сравнению с торфосмесью, и в 2 и 1,5 раза соответственно по сравнению с бактеризованной торфосмесью.

Таким образом, установлено, что включение природного минерала трепела в торфосмесь, содержащую биопрепарат Биоактин на основе спорообразующих бактерий *Bacillus subtilis,* в значительной степени ускоряет ростовые процессы, формирующиеся растения превосходят по массе надземной части на 44,8% растения на бактеризованной торфосмеси без трепела.

**Литература:**


1. Моргун, В. В. Ростстимулирующие ризобактерии и их практическое применение / В. В. Моргун, С. Я. Коць, Е. В. Кириченко // Физиол. и биохим. культур. раст. – 2012. – Т. 41, № 3. – С. 187–207.
2. Стимулирующие рост растений бактерии в регуляции устойчивости растений к стрессовым факторам / И. В. Максимов [и др.] // Физиол. раст. – 2015. – Т. 62, № 6. – С. 763–775.
3. Фитостимулирующая, антагонистическая активность и биологическая эффективность штамма *Bacillus subtilis* IBM B-7243 / И. В. Драговоз [и др.] // Микробиология и биотехнология. – 2014. – № 4. – С. 77–87.
4. Синтез внеклеточных фитогормонов штаммами *Bacillus*, выделенных из различных природных источников / И. В. Драговоз [и др.] // Микробиол. журн. – 2013. –Т. 75, № 3. – С. 41–46.
5. Мелентьев, А.И. Аэробные спорообразующие бактерии *Bacillus* Cohn в агроэкосистемах / А.И. Мелентьев; Рос. акад. наук, Уфим. науч. центр, Ин-т биологии. – М.:Наука, 2007.– 147 с.
6. Удалова, О.Р. Конструирование корнеобитаемых сред как технологический прием культивирования растений томата в регулируемой агроэкосистеме / О.Р. Удалова, Л.М. Аникина, В.Л. Судаков // Материалы научной сессии по итогам 2013 года Агрофизического института. – Санкт-Петербург: АФИ, 2014. – С.84-89.
7. Панова, Г.Г., Научно-технические основы оптимизации продукционного процесса в регулируемой агроэкосистеме / Г.Г. Панова [и др.] // Агрофизика. – 2011. – №1 – С. 29-37.
8. Природные цеолиты в земледелии и растениеводстве: методические рекомендации. – Новосибирск, Росцеолит. – 1997. – 26 с.
9. Использование природного минерала - трепела в растениеводстве на загрязненных радионуклидами территориях / Н.А. Пузан [и др.]/ Экология человека в постчернобыльский период: материалы XV Международной конференции, 28-30 ноября 2007 г. – С. 1-5.
10. Культуры микроорганизмов. Биопрепарат Биоактин // Продукция Республики Беларусь [Электронный ресурс]. – 2015. – Режим доступа: http://gskp.by/DetailProd.php?UrlReg=0&UrlDist=0&UrlGoodsId=59961&UrlKlpId=53242&UrlGoodsAssrId=114672&TabId=3. – Дата доступа: 20.09.2015.

**Капрій М. М.[1], Грицаєнко З. М.[1], Пономаренко С. П.[2]**
[1]Уманський національний університет садівництва, Інститутська вулиця, 1, Умань, Україна
[2]ДП МНТЦ «Агробіотех» НАН і МОН України, Київ, Україна

## В КОТРЕ ДОВЕДЕНО ДОЦІЛЬНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ БІОСТИМУЛЯНТІВ З ГЕРБІЦИДАМИ

*The results of research on the combined use of growth regulator with bioprotective effect Regoplant (250 ml/t, 50 ml/ha) and herbicide Herbitox (1.0 l/ha) during cultivation of sugar sorghum (var. silage 42) are presented. It is shown that the combined use of these products increased leaf area by 27.2%, the number of weeds has declined from 40 pcs./m$^2$ (control variant) to 4.3 pcs./m$^2$; yields have increased: herbage - 387.3 kg/ha (+6.27 t/ha), grain – 4.6 t/ha (+1.08 t/ha).*

На протязі 15 років на кафедрі біології, яку очолює доктор с.г. наук Грицаєнко З.М. проведені унікальні дослідження більш як 25 сучасних гербіцидів світових компаній Bayer crop science (Germany), Du Pont International Operations (Sarl Switzerland), Nufarm GmbH & CokG (Austria), Dow Agro Sciences, GmbH (Austria), Syngenta International AG (Switzerland).

Останні роки проведені дослідження ряду гербіцидів компанії Август, РФ – Фабіан – при вирощуванні сої, Гербітокс – при вирощуванні сорго, з різними нормами внесення, як окремо, так і спільно з українськими біостимулянтами третього покоління від компанії Агробіотех.

В данній роботі надаємо результати досліджень при вирощуванні сорго цукрового, сорт Силосне 42, української селекції. Сорт середньостиглий, високопродуктивний, стійкий до вилягання, осипання, посухи та ураження хворобами. Цей сорт рекомендовано використовувати в зоні лісостепу, вегетаційний період 124 днів. Насіння було люб'язно надано Інститутом біоенергетичних культур та цукрових буряків НААН.

Дослідження проводили на дослідному полі кафедри біології Уманського НУС, грунт – чорнозем типовий опідзолений, площа ділянки – 0,73 га. Виконавець роботи – аспірант Капрій Максим Михайлович, м.т. 0968937146.

**Результати досліджень:**

Таблиця 1

Динаміка площі листової поверхні при застосуванні різних норм гербіциду Гербітокс та різних способів застосування регулятору росту Регоплант

| Варіант досліду | Фаза кущіння | | Фаза викидання волоті | | Фаза молочно - воскової стиглості | | Вміст хлорофілів | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Площа листя на 1 росл. (см$^2$) | % | Площа листя на 1 росл. (см$^2$) | % | Площа листя на 1 росл. (см$^2$) | % | Сума хлоро філів *a* і *b* | % |
| Контроль | 44,1 | 100,0 | 367,6 | 100,0 | 426,5 | 100,0 | 3,719 | 100,0 |
| Гербітокс 1,0 л/га | 51,6 | 117,0 | 385,9 | 105,0 | 464,9 | 109,0 | 3,89 | 104,6 |
| Регоплант 250 мл/т + Гербітокс 1,0 л/га + Регоплант 50мл/га | 64,6 | 146,5 | 460,6 | 125,3 | 542,5 | 127,2 | 5,106 | 137,3 |
| **НІР$_{05}$** | 1,78 | - | 3,29 | - | 4,42 | - | 4,42 | - |

Таблиця 2

Забур'яненість посівів сорго цукрового, сорт Силосне 42, українська селекція, площа 0,73 га

| Варіант досліду | Кількість бур'янів | Маса бур'янів | Знищення бур'янів, % | |
|---|---|---|---|---|
| | шт/м$^2$ | г/м$^2$ | за кількістю | за масою |
| Контроль | 32 | 135,1 | 0 | 0 |
| Гербітокс 1,0 л/га | 13,4 | 83,9 | 58,1 | 37,9 |
| Регоплант 250 мл/т + Гербітокс 1,0 л/га + Регоплант 50мл/га | 4,3 | 16,5 | 86,6 | 87,8 |
| $НІР_{05}$ | 0,78 | - | - | - |

Таблиця 3

Показники вмісту хлорофілу в листках сорго, мг/г сирої маси

| Варіант досліду | Фаза кущення | | Фаза викидання волоті | | Фаза молочно-воскової стиглості насіння | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Сума хлорофілів (a+b) | % до контролю | Сума хлорофілів (a+b) | % до контролю | Сума хлорофілів (a+b) | % до контролю |
| Контроль | 1,567 | 100,0 | 2,908 | 100,0 | 3,719 | 100,0 |
| Гербітокс 1,0 л/га | 1,642 | 104,8 | 3,134 | 107,8 | 3,890 | 104,6 |
| Гербітокс 1,0 л/га + Регоплант 50 мл/га | 1,871 | 119,4 | 3,391 | 116,6 | 4,131 | 111,1 |
| Регоплант 250 мл/т + Гербітокс 1,0 л/га | 2,053 | 131,0 | 3,639 | 125,1 | 4,384 | 117,9 |
| Регоплант 250 мл/т + Гербітокс 1,0 л/га + Регоплант 50мл/га | 2,197 | 140,2 | 3,959 | 136,1 | 5,106 | 137,3 |

Таблиця 4

Вплив біорегулятору росту Регоплант та гербіциду Гербітокс на урожай зеленої маси та зерна Сорго.

| Варіант досліду | Урожайність зеленої маси | | Урожайність зерна | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | ц/га | % | ц/га | +, - до контролю | % |
| Контроль | 324,6 | 100,0 | 35,2 | - | 100,0 |
| Гербітокс 1,0 л/га | 331,8 | 102,2 | 38,6 | +3,4 | 109,7 |
| Гербітокс 1,0 л/га + Регоплант 50 мл/га | 347,7 | 107,1 | 41,4 | +6,2 | 117,6 |
| Фон + Гербітокс 1,0 л/га + Регоплант 50мл/га | 387,3 | 119,3 | 46,0 | +10,8 | 130,7 |
| $НІР_{05}$ | 3,13 | - | 1,87 | | - |

**Висновки:** доведено доцільність застосування українського біостимулянту з біозахисним ефектом Регоплант при допосівній обробці насіння – 250 мл/т та спільного внесення гербіциду Гербітокс – 1л/га та Регопланту 50 мл/га. Найбільш суттєвий результат отримано при допосівній обробці насіння Регоплантом та обприскуванні посівів Регоплантом плюс Гербітокс, що можна рекомендувати аграріям, як український інноваційний проект.

**Карпенко І. В.[1], Лубенець В. І.[2], Карпенко О.Я.[2], Мідяна Г.Г.[1], Новіков В.П.[2]**
[1]Відділення фізико-хімії горючих копалин ІнФОВ ім. Л. М. Литвиненка НАН України, Львів, Україна
[2]Національний університет «Львівська політехніка», Львів, Україна

## ПЕРСПЕКТИВИ КОМПОЗИЦІЙ РАМНОЛІПІДНИХ БІОПАР З ЕТИЛТІОСУЛЬФОНАТОМ ДЛЯ ЗАСОБІВ ЗАХИСТУ РОСЛИН

*The high antimicrobial activity against ptytopathogens of complexes rhamnolipid surfactants with ehtylthiosulfonate has been shown, that indicate their perspectives to create plants protection means.*

Розроблення ефективних та екологічно безпечних біоцидних препаратів для захисту сільськогосподарських рослин від фітопатогенів є актуальним завданням сучасної біотехнології. Доцільність використання біогенних поверхнево-активних речовин у комплексних засобах для рослинництва пов'язані з їх фізико-хімічними і біологічними властивостями, а також низькою токсичністю [1].

Метою нашої роботи було дослідження антимікробної активності композицій рамноліпідних біоПАР з тіосульфонатом (ЕТС).

У роботі використано рамноліпідні ПАР штаму *Pseudomonas sp*. PS-17, а саме: супернатант культуральної рідини (СКР) та рамноліпідний біокомплексу (РБК), що містить рамноліпіди і полісахарид (4:1), отримані у Відділенні фізико-хімії горючих копалин ІнФОВ НАН України [2], а також синтетичний аналог фітонцидів часнику – етилтіосульфонат (ЕТС), синтезований в НУ «Львівська політехніка» [3]. Оскільки ЕТС є мало розчинним у воді, і це ускладнює його використання, актуальним напрямком є розробка водорозчинних комплексів ЕТС з підвищеною активністю. Досліджено дію рамноліпідних ПАР на антимікробну активність ЕТС щодо низки мікроорганізмів фітопатогенів, що спричиняють захворювання багатьох сільськогосподарських рослин (табл.).

Таблиця – Антимікробна активність композицій тіосульфонату ЕТС з рамноліпідними біоПАР

| Мікроорганізми | ЕТС, г/дм$^3$ | | ЕТС + РБК 0,01 г/дм$^3$ | | ЕТС + СКР 0,01 г/дм$^3$ | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | МІК | МБК | МІК | МБК | МІК | МБК |
| *Clavibacter michiganensis* | 0,02 | 0,07 | 0,02 | 0,05 | 0,01 | 0,04 |
| *Agrobacterium tumefaciens* | 0,02 | 0,05 | 0,01 | 0,03 | 0,005 | 0,03 |
| *Xanthomonas campestris* | 0,05 | 0,09 | 0,01 | 0,03 | 0,01 | 0,02 |
| *Pseudomonas syringae* | 0,02 | 0,04 | 0,01 | 0,02 | 0,01 | 0,02 |
| *Erwinia corotovora* | 0,02 | 0,04 | 0,01 | 0,02 | 0,01 | 0,02 |

Встановлено, що рамноліпідні ПАР штаму *Pseudomonas sp*. PS-17 сприяють підвищенню антимікробної активності етилтіосульфонату щодо досліджених фітопатогенів. Отримані результати свідчать, що композиції СКР з етилтіосульфонатом є активнішими щодо фітопатогенів, ніж сам ЕТС, про що свідчать нижчі значення мінімальних інгібувальних концентрацій (на 50-80 %) та мінімальних біоцидних концентрацій – на 40-42,8%. Встановлено, що у композиціях з РБК також можна суттєво зменшити МІК етилтіосульфонату – на 50 % та його МБК – на 28,6-66,8 %. Такий ефект можна пояснити впливом рамноліпідних ПАР на проникність клітинних мембран мікроорганізмів [4].

Показано, що досліджені рамноліпідні ПАР сприяють змінам проникності клітинних мембран тестових мікроорганізмів-фітопатогенів *Agrobacterium tumefacians, Pseudomonas syringae, Clavibacter michiganensis*.

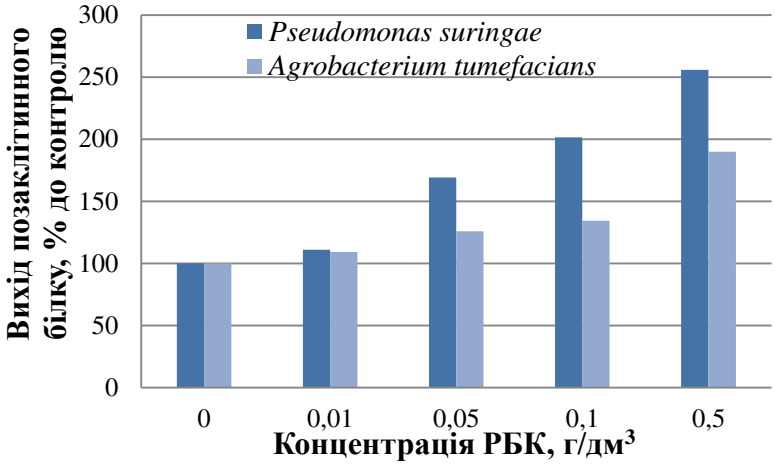



Рис. 1. Вплив рамноліпідного біокомплексу на вихід білка з клітин *Agrobacterium tumefacians* і *Pseudomonas suringae.*

Встановлено, що РБК за концентрацій 0,05-0,5 г/дм$^3$ сприяв підвищенню проникності клітинних мембран вивчених фітопатогенів. Така здатність рамноліпідних ПАР до регулювання проникності мембран мікроорганізмів є важливим показником для їх використання при створенні ефективних композицій для сільського господарства, для підсилення дії біоцидів.

Отже, застосування рамноліпідних ПАР для підвищення активності біоцидів при створенні ефективних засобів для рослинництва є перспективним й актуальним напрямком сучасного екологічно безпечного сільського господарства.

**Література:**

1. C. N. Mulligan, S. K. Sharma, A. Mudhoo Biosurfactants: Research Trends and Applications / // Boca Raton: CRC Press.- 2014. – 352 P.
2. Карпенко Е. В., Покиньброда Т. Я., Макитра Р. Г., Пальчикова Е. Я. Оптимальные методы выделения биогенных поверхностно-активных рамнолипидов // Журнал общей химии. – 2009. – № 12. – С. 2011-2014.
3. Лубенець В.І. Тіосульфонати: синтез і властивості // Укр. хім. журн. – 2003. – Т. 69, № 3. – С. 109-117.
4. A.Sotirova, T.Avramova, I.Lazarkevich, V.Lubenets, E.Karpenko, D.Galabova. The importance of rhamnolipid- biosurfactant induced changes in bacterial membrane lipids of *Bacillus subtilis* for the antimicrobial activity of thiosulfonates // Curr. Microbiol., 2012, Vol. 65, № 5, P. 534-541

**Клименко Ю., Мацьків В.П., Матюхіна Т.З., Новіков В.П.**
Національний університет «Львівська політехніка», кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології, МОН України, Львів, Україна

## МІКОТАБ – НОВИЙ ШЛЯХ І НОВА КОНЦЕПЦІЯ В ОРГАНІЧНОМУ ЗЕМЛЕРОБСТВІ

*The highly effective spore mushroom drug «Mikotab» with a wide spectrum of action was designed. The «Mikotab» is a product of biotechnological cultivation of strains of black truffle, white truffle and common stinkhorn, that contains products of metabolism, such as auxins, cytokinins, enzymes, lipids and other physiological substances, for stimulating of root development and further providing of balanced nutrition of agriculture crops. The «Mikotab» is increasing the energy of growing and field germination, yield and quality of seeds, also provides plant resistance to disease and stress factors (high and low temperatures, drought).*

Ґрунт — живий організм. У Біблії говориться, що ґрунт має силу (Буття 4:12). І це слушне твердження, оскільки в родючому ґрунті вирує життя. Він є середовищем, необхідним для росту і життя рослин. Крім того, його заселяє безліч тваринних організмів. Лише один кілограм ґрунту може містити понад 500 мільярдів бактерій, один мільярд грибків і до 500 мільйонів багатоклітинних створінь, таких, як комахи чи хробаки. Чимало з цих організмів співпрацюють, розкладаючи органічні рештки: опале листя, екскременти тварин, тощо. Завдяки цьому виділяється азот у такій формі, в якій його можуть поглинати рослини. Ці малопомітні трудівники сприяють перетворенню вуглецю на вуглекислоту й інші сполуки, необхідні рослинам для фотосинтезу.

Як же бути, щоб мати овочі і фрукти, ягоди, горіхи і ліси? А вихід простий: потрібно нагодувати свої рослини. Але не просто чимось досхочу – у такому випадку вони жируватимуть і взагалі не плодоноситимуть. Нагодувати їх потрібно розумно, за природною технологією, збалансовано. І допоможе нам в цьому мікоризоутворючий препарат «Мікотаб» Дайте рослинам все, що необхідно для їх активного життя. Щоб вони змогли плодоносити не з примусу, а за бажанням.

Мікотаб забезпечує надійний захист коренів рослини, підвищує стійкість рослин до зневоднення, що є дуже важливим для вирощування культур в посушливих районах. Сильна імунна система дозволяє рослинам краще боротися з хворобами та патологічними мікроорганізмами. Завдяки оптимальному забезпеченню поживними речовинами мікоризовані рослини мають стійкий імунітет.

Всі життєво важливі процеси організмі людини в більшості залежать від того, що людина вживає в їжу. Їжа є джерелом здоров’я і життєздатності. Забезпечує організм енергією для роботи, матеріалом для побудови нових клітин і тканин збільшує його опір до різних не бажаних впливів навколишнього середовища.

Мікоризація насіння і земельних ділянок на яких будуть висіяні культури дає змогу господареві отримати високоякісний врожай без хімії, забезпечує рослину мінеральними речовинами, які знаходяться в грунті, посилює стійкість до хвороб.

Вирощування посадкового матеріалу в торф'яних таблетках з використанням препарату «Мікотаб» дозволяє контролювати поживне середовище, температуру повітря, проводити садіння сіянців протягом цілого вегетаційного періоду, зменшити витрати насіння порівняно з сівбою у відкритий ґрунт у 4-7 разів. Також використання торф'яних таблеток дає можливість швидкого проведення висаджування садивного матеріалу без пошкодження коренів рослин, тривалого транспортування на значні віддалі зі збереженням високої приживлюваності (95-100%).

З використанням торф'яних таблеток можна вирощувати як деревні та чагарникові породи для лісової і садово-паркової галузей, так і квіткові, овочеві чи інші культури рослинного світу.

Глинисті ґрунти садів та виноградників щільні в них погано проникають повітря і тепло. Вода застоюється на поверхні до повного випаровування роблячи суцільну кірку. В результаті повітря не проникає в ґрунт і життєдіяльність мікроорганізмів для процесу ґрунтоутворення обмежена.

Щоб зробити ґрунт структурним і високоплодотворним потрібно оселити в ньому гриби-мікоризоутворювачі.

У хвойних насадженнях, борах в опади хвої утворюється грубий перегній, який називається мор. Товщиною від 5 до 20см. Груба підстилка розкладається повільно, причиною чого є бідність мезофауни (дощових хробаків немає, лише зрідка зустрічаються ракоподібні). Діяльність мікрофлори уповільнюється також антибіотиками, які містяться в грубому опади хвої, нестачею в опади зольних речовин і азоту, а також кислою реакцією, що сприяє розповсюдженню торф’яних мохів. Обмін речовин між лісостаном і ґрунтом повільний, що негативно впливає на продуктивність лісостану. Коріння хвойних порід дерев густо заселяють нижні горизонти лісової підстилки. В бідних і відносно бідних едотопах у грубому гумусі розміщена майже вся коренева система сосни і ялини. «Дерево стоять на ґрунті» - цей вираз розкриває сутність відміченого явища і свідчить про слабку вітростійкість таких насаджень. Задовільний ріст дерев при поганому розвитку кореневої системи обумовлюється впливом мікоризи.

Найнебезпечніша для сосняків є коренева губка, що виникає у результаті діяльності базидіальних грибів. Ураження коренів призводить до ослаблення та засихання дерев сосни, вони вивалюються вітром. Особливо це явище спостерігається на староорних землях, де, як правило, відсутні шапкові гриби. Якраз вони протидіють ураженню та захворюванню на кореневу губку.

Є гарне прислів'я "Лісу немає – і гриба немає ". Це своєрідне співтовариство рослин та грибів, яке дуже часто відбивається у назвах останніх (підберезник, підосичники), знайшло наукове обґрунтування у відкритті явища мікоризи. Це представляється наступним чином: коли міцелій певного виду спочатку поширюється в грунті і на якомусь етапі свого розвитку зустрічає дрібні корінці рослин певного виду, то обплітає їх своєрідною, "муфтою",утворюючи грибний чохлик. Це добре і для рослини, і для гриба. Рослина забезпечує мікоризні гриби вуглеводами. У свою чергу гриб бере участь у забезпеченні рослини макро- і мікроелементами, водою. Крім цього, мікоризоутворюючі гриби охороняють коріння вищих рослини від шкідливих мікроорганізмів.

Внаслідок застосування препарату «Мікотаб», підвищується засвоєння макро- і мікроелементів з грунту шляхом активного перетворення недоступних елементів живлення в доступній формі і активізації вбираючої здатності кореневої системи.

Рослина отримує від грибів-симбіонтів ензими, антибіотики, гормони, мінерами в результаті рослина краще розвивається і набагато сильніше опирається хворобам.

Гриби – мікоризоутворювачі розростаються в ґрунті, утворюючи грибницю, яка є виробничим цехом поживи для рослини, покращує структуру ґрунту, важливою особливістю якого є пористість, від неї залежить водний, повітряний, тепловий і поживний режими ґрунту. Підвищення буферності ґрунтів, менша можливість вимивання поживних речовин. Всі ці фактори є важливим показником родючості ґрунту.

**Колісник Н.М.[1], Бахмат О.М.[2], Козіна Т.В.[2]**
[1]Асоціація «Біоконверсія», Івано-Франківськ, Україна
[2]Подільський ДАТУ, Кам'янець-Подільськ, Україна

## ЗАСТОСУВАНЯ БІОПРЕПАРАТУ «ВЕРМИМАГ» ПРИ ВИРОЩУВАННІ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ КУЛЬТУР В ОРГАНІЧНОМУ ЗЕМЛЕРОБСТВІ

*The results of scientific research and industrial application of humic complex liquid organic fertilizer "Vermymah" in organic agriculture.*

Проблема виробництва екологічно чистої продукції в Україні залишається однією з найбільш обговорюваних галузевими фахівцями. Адже природні ресурси країни для розвитку органічного сільського господарства унікальні, а про інтерес до даного напрямку свідчить розширення площ під органічне землеробство до 400 тис. га та збільшення попиту на екологічно чисту продукцію [1].

Одним із продуктивних шляхів отримання високоякісної органічної продукції є застосування в агротехнологіях рідкого органічного землеробства та органічного добрива «Вермимаг», до складу якого входять гумати, фульвокислоти, амінокислоти, вітаміни, фітогормони, рістактивуючі речовини, а також понад 30 різних макро- (азот, фосфор, калій, до 4% магнію, мікроелементи (бор, молібден, мідь, цинк, залізо та ін.) та спори ґрунтових організмів [1,2].

Добрива «Вермимаг» застосовують для:

- передпосівного оброблення насіння,
- позакореневого підживлення рослин під час вегетації,
- фертигації (введення його у поливні води при крапельному зрошенні).

Мікроелементи в хелатній формі, які входять в склад добрива, за проведення передпосівного оброблення насіння, активізують основні процеси його проростання, в зоні кореневої системи покращується розвиток необхідних рослинам екологотрофічних груп ґрунтових мікроорганізмів, зменшується ураженість основними хворобами. Це сприяє розвитку міцної, розгалуженої, кореневої системи, виробленню специфічних функціональних протеїнів, які значно збільшують опір рослин до стресових умов вирощування, таких як посуха, пошкодження шкідниками, градом, хворобами, включаючи вірусні.

Поживні речовини, що є складовими рідкого органічного добрива«Вермимаг», нанесені на поверхню листя та листяної маси рослини, нею поглинаються і проходять той самий шлях синтезу, що і елементи, які надходять в рослину через кореневу систему, але у 5-8 разів швидше і засвоювання їх рослиною становить 85-90%, порівняно з 30-40% засвоюваності їх через кореневу систему із добрив внесених в ґрунт, знижували пестицидний стрес на рослини.

Завдяки вмісту в добриві магнію - елементу який є основою фотосинтезу, на 12-30% збільшуються показники фотосинтетичної діяльності, в результаті чого активується ріст та розвиток рослини, що забезпечує приріст врожаю на 10-35%.

Обприскування рослин «Вермимагом»підтримує процес фотосинтезу в умовах перевищення допустимих температур на 2-4°С. Це дозволяє рослинам рости і розвиватися в умовах, коли температура навколишнього середовища сягає вище 33-36°С, що особливо актуально для більшості регіонів в останні роки.

На основі проведених досліджень вченими асоціації «Біоконверсія», Подільського Державного аграрно – технічного університету, Чернігівського інституту АПВ НААН та ін. встановлено, що позакореневі підживлення добривом «Вермимаг» слід проводити впродовж вегетації у критичні фази розвитку культур (фази органогенезу, в період проходження яких відбуваються процеси закладання основних елементів продуктивності: колоса, кошика,

качана, бобів та ін.).

Знаючи такі критичні фази для рослини, і застосовуючи саме в цей період позакореневі підживлення можна впливати на закладання елементів продуктивності, тобто на майбутній врожай та його якість, а саме:

| № | Культури | «Вермимаг» |
|---|---|---|
| 1 | Озимі і ярі зернові- у фазу кущіння або виходу в трубку: повторне початок колосіння | 5-6 л/га |
| 2 | Соя - у фазу початок бутонізації, повторно початок цвітіння | 5-7 л/га |
| 3 | Ріпак - у фазу стеблування, повторно до початку цвітіння | 5-6 л/га |
| 4 | Гречка - у фазу бутонізації і початок цвітіння; | 5-6 л/га |
| 5 | Рис - у фазу кущіння і перед викиданням волоті | 5-8 л/га |
| 6 | Кукурудза - у фазу 3-5 листочків, повторно у фазу 7-12 листочків | 5-7 л/га |
| 7 | Соняшник - у фазу 4 пар справжніх листків: на початку формування зачаткових кошиків | 5-8 л/га |
| 8 | Цукрові буряки - у фазу 6-8 листків і в період змикання міжрядь | 5-8 л/га |
| 9 | Картопля - одночасно з обробкою проти колорадських жуків і перед початком цвітіння | 6-8л/га |
| 10 | Овочеві культури - у фазу 3-4 справжніх листочків, повторно початок цвітіння | 6-8 л/га |
| 11 | Баштанні культури - у фазу 3-5 листочків, повторну у фазу бутонізації | 6-8 л/га |
| 12 | Зерняткові, плодові культури (3-4 рази) | 6-8 л/га |
| 13 | Виноградники (2-3 рази) | 6-8 л/га |
| 14 | Ягідники - після висадки розсади і в період бутонізації | 6-7 л/га |
| 15 | Квіти - два рази у фазу активного росту | 6-7 л/га |
| 16 | Хміль – замочування садивного матеріалу перед посадкою з експозицією 2-4 години, триразове обприскування рослин в період вегетації | 7-10 л/га |

В господарствах Одеської, Івано-Франківської, Київської, Кіровоградської, Чернігівської та інших областей, рідке органічне добриво «Вермимаг» в 2012-2015 роках забезпечило приріст урожайності зернових – 5-9 ц/га, ріпаків – 4,2-6,4 ц/га, сої, соняшнику – 5,2-7,3 ц/га, кукурудзи на зерно – 17-21 ц/га, рису – 8-12 ц/га, овочів – 70-120 ц/га.

Таким чином, застосування рідкого органічного добрива «Вермимаг» забезпечує приріст врожаю високоякісної органічної продукції.

**Література**

1. Стецишин П.О. Основи органічного виробництва. П.О. Стецишин, В.В. Рекуненко, В.В. Пиндус та ін.Навчальний посібник. – Вінниця: Нова книга. 2008. – 528 с.
2. Колісник Н.М. Застосуваня біостимуляторів – добрив «Вермимаг» та «Вермийодіс» при вирощуванні зернової і силосної кукурудзи / Н.М. Колісник. – Посібник українського хлібороба. – К., 2014. – Т. 1. – С. 166.
3. Мельник І.П. Рекомендації по застосуванню біостимуляторів в технологіях вирощуваня сільськогосподарських культур / І.П. Мельник. – Івано-Франківськ: НВ «Місто», 2009. – 20 с.

**Коломієць Ю.В.**[1], **Григорюк І.П.**[1], **Буценко Л.М.**[2], **Лісовий О.А.**[1]
[1]Національний університет біоресурсів та природокористування України, Київ, Україна
[2]Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, Київ, Україна

## БАКТЕРІАЛЬНІ ХВОРОБИ РОСЛИН ТОМАТІВ В УМОВАХ ВІДКРИТОГО І ЗАКРИТОГО ҐРУНТУ УКРАЇНИ

*It was established that the main causes of mass diseases of tomato in covered and open ground in Ukraine are agents of bacterial cancer, bacterial black spotting and bacterial speck of tomato plants. Typical symptoms are wilting and die-off of young plants, blackening of fiber vascular bundles, black spotting of leaves and fruits, and fruit stem rot. It was studied morphological and cultural, as well as physiological and biochemical properties of the selected strains of the agents of tomato bacterial diseases.*

Бактеріальні хвороби спричиняють некроз серцевини стебла, бактеріальну плямистість листків, крапчастість і вершинну гниль плодів, водянисту гниль стебел й плодів, бактеріальне в'янення стебел та рак коренів рослин томатів. Частота і інтенсивність спалахів хвороб різняться за роками й залежить від погодно-кліматичних чинників, а також ступеня їх відповідності екологічним потребам збудника [1].

В умовах відкритого і закритого ґрунту України найпоширенішою є чорна бактеріальна плямистість. Збудник *Xanthomonas vesicatoria* уражує надземну частину рослин, у результаті чого знижується врожай плодів на 10–20 %. За сильного ураження плоди не утворюються, а уражені – втрачають якість і знижуються їх смакові якості. Наприкінці вегетації поширення і розвиток чорної бактеріальної плямистості досягає 95 й 40 %, а ступінь ураження плодів – 1,7 %. У Запорізькій і Дніпровській областях України простежується розвиток бактеріальної крапчастості (збудник *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*), яку зумовлює підвищена вологість (60 – 70 %) і низькі нічні температури повітря (12…15 °С). Відбувається ураження надземних органів рослин, особливо плодів [2]. За даними фітосанітарного стану агроценозів України і рекомендацій щодо захисту рослин томатів, бактеріальна крапчастість з'являється у першій декаді липня, а в серпні місяці ураженість становить 1–45 %, максимальна – 68, з розвитком хвороби – 0,3–6, плодів – 0,5–12 %.

За останнє десятиріччя 2005 – 2015 рр. в тепличних господарствах України масового поширення набула загибель сортів томата, яка супроводжувалася в'яненням і підвищенням водного дефіциту листків та цілісних рослин [2]. Основною причиною бактеріального в'янення томата в відкритому і закритому ґрунті є наявність *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* – збудника бактеріального раку томата.

Метою нашої роботи було вивчити і ідентифікувати збудників бактеріальних хвороб рослин томата в умовах відкритого й закритого ґрунту.

Матеріали і методи. Рослини томатів з ознаками різного ступеня бактеріального ураження отримували протягом періоду вегетації з тепличних господарств Дніпровської та Запорізької областей України. Дослідження проводили стандартними мікробіологічними та фітопатологічними методами [3].

Результати. У відкритому ґрунті найчастіше траплялися хворі рослини томатів із симптомами, які найчіткіше виявлялись на листках і плодах. На листках формувались коричневі крапочки (1–2 мм), які були оточені хлоротичними ореолами. Поодинокі крапочки зустрічались переважно по краях листкової пластинки та поблизу жилок. За умов масового ураження майже вся поверхня листка набувала хлоротичного забарвлення. Із листків зараження переходило на плоди, на яких виразно виділялись два типи некрозів: припіднятими над поверхнею, а другі – плоскими. Нами відібрано плоди з піднятими

темними плямами, діаметром 1–5 мм та дрібними темно-коричневими дещо опуклими крапками. Тканина під плямами на зрілих плодах томатів загнивала.

У закритому ґрунті листки більшості уражених бактеріозами рослин були в'ялими, які скручувалися, набували гофрованого вигляду, коричневіли і засихали. Причиною в'янення і загибелі рослин томата в теплицях була наявність уражених бактеріальними хворобами судин стебла на поперечних та повздовжніх зрізах. Під впливом бактерій судини спочатку набували жовтуватого або світло-коричневого кольору, потім все більше темнішали і зрештою ставали темно-коричневими.

У відкритому і закритому ґрунті за описаними симптомами інфекцій захворювання рослин томатів нами віднесено до трьох найшкодочинніших в Україні: бактеріальний рак, бактеріальна крапчастість, чорна бактеріальна плямистість.

У лабораторних умовах в результаті бактеріологічного аналізу з листків і плодів томатів з ознаками ураження виділено три морфологічні типи ізолятів бактерій.

До першого типу віднесено круглі, випуклі і жовті з рівними краями слизові колонії, які характерні для *X. vesicatoria*. Вивчення біологічних властивостей ізолятів проводили порівняно з колекційними штамами і з даними визначників бактерій. Показано, що виділені ізоляти бактерій є грамнегативними, оксидазонегативними, каталазопозитивними, тонкими паличками 0,6×1,0–1,5 мкм, малорухливими. У них відсутнє відновлення нітратів, утворення індолу, які продукували кислоту з глюкози, манози, галактози, желатин зріджували повільно, лактозу, рамнозу, сорбіт не використовували, на середовищах з вуглеводами утворювали напівпрозорі колонії.

Ізоляти другого типу сіро-білі, округлі, слабо підняті з гладкою блискучою поверхнею колонії, палички 0,6×1,5–3 мкм, рухливі, грамнегативні, за умов росту на середовищі МПБ утворювали муть з плівкою на поверхні, каталазопозитивні, цитрат утилізували, індол не утворювали, продукували кислоту з глюкози, сахарози, інозиту, не засвоювали лактозу, мальтозу, арабінозу, ксилозу, валін, триптофан та треонін, зумовлювали зелену флуоресценцію середовища МПБ. Установлено, що ізоляти за сукупністю біологічних властивостей ідентичні виду *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. Для ідентифікації бактерій *Pseudomonas syringae* часто використовують LOPAT тест. За цими ознаками виділені патогенні бактерії ідентичні *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, оскільки продукували леван, є оксидазонеактивними, не спричиняли мацерації рослинних тканин, не мистили аргініндигідролази, здатні викликати реакції надчутливості у листках рослин тютюну.

Ізоляти третього типу круглі опуклі колонії з рівним краєм, непрозорі, жовті, краплевидні, неслизисті характерні для *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*. Палички 0,3×1,0–1,4 мкм, нерухливі, грампозитивні, які не утворювали леван з сахарози, оксидазонегативні, каталазопозитивні, цитрат утилізували, не гідролізували казеїн, крохмал, продукували кислоту з глюкози та манози.

**Література**

1. Аветисян Ю. Ф. Возбудители бактериальных болезней томата в хозяйствах Днепропетровской области / Ю. Ф. Аветисян, Ю. В. Коломиец // Глобализация науки: проблемы и перспективы: сборник статей. – Уфа : РИЦ БашГУ, 2014. – Т. 3. – С. 186–189.
2. Фітопатогенні бактерії. Бактеріальні хвороби рослин: Монографія / Р.І. Гвоздяк, Л.А. Пасічник, Л.М. Яковлева [та ін.] за ред. В. П. Патики – К.: ТОВ «НВП «Інтерсервіс», 2011. – 444 с.
3. Діагностика фітопатогенних бактерій: Методичні рекомендації. / В. П. Патика, Л. А. Пасічник, Л. А. Данкевич, С. М. Мороз, Л. М. Буценко [та ін.] За ред. В. П. Патики. – Київ, 2014. – 76 с.

**Конечна Р.Т.[1], Петріна Р.О.[1], Федорова О.В.[1], Курка М.С.[1], Миляніч А.О.[1], Ясіцька-Місяк І.[2], Вечорек П.[2], Новіков В.П.[1]**
[1]Національний університет «Львівська політехніка», Львів, Україна
[2]Опольський університет, Ополе, Польща

## АЛЬТЕРНАТИВНИЙ БІОТЕХНОЛОГІЧНИЙ МЕТОД ОДЕРЖАННЯ БІОМАСИ *GENTIANA LUTEA* L.

*The thesis is devoted to obtaining of callus biomass from cultivated in vitro Gentiana lutea L. The growth parameters of explants and callus culture, selection of sterilizing agents for explants and optimization of growth medium were studied. The optimal conditions for cultivating Gentiana lutea L. in vitro are the MSO growth medium with 1 mg/ml of indole-3-acetic acid, 0.6 mg/ml of naphthaleneacetic acid, 1 mg/ml of kinetin and 1 mg/ml of 2,4Dichlorophenoxyacetic acid at the temperature of 24-26$^0$C. The phytochemical screening for two kinds of raw materials the roots and callus biomass of Gentiana. lutea L were carried out.*

Безпечні та ефективні рослинні лікарські засоби можна отримати не тільки на основі біомаси рослинної сировини з природи, але й на основі біомаси, отриманої в умовах *in vitro*. Це дозволяє створювати та впроваджувати у практичну медицину рослинні лікарські засоби на основі альтернативних джерел сировини вітчизняного виробництва. Більшість видів роду *Gentiana* мають широкий спектр фармакологічної активності їхніх БАР, тому для відновлення стабільності природних популяцій видів та поповнення сировинної бази, поряд із традиційними методами, доцільним є використання сучасних біотехнологічних методів і підходів.

Культивування *Gentiana lutea* L. поза природним ареалом альпійської та субальпійської зон Карпат є неможливим через високу вимогливість рослини до екологічних умов. Тому створення промислових плантацій тирличів для забезпечення фармацевтичної промисловості рослинною сировиною є низько ефективним і економічно невигідним, оскільки спостерігається низька схожість насіння, пізній вступ у фазу цвітіння, вибагливість до умов зростання, повільний приріст біомаси. Деколи необхідно вирощувати рослини до 10 років, щоб отримати кореневище масою 150–200 г. Біотехнологічні методи дають високі результати порівняно з природними умовами завдяки своїй економічності, швидкості утворення потрібного матеріалу та можливості контролювати кожен з етапів. Також важливим є і збереження генофонду цього виду. Відомо, що екстракти *Gentiana lutea* є основою імпортних лікарських препаратів "Афлубін", "Бальзам Маурера" (Австрія), "Шведська гіркота", "Синупрет", "Лімфоміозот", "Тонзилла композитум" (Німеччина),"Шлункові краплі" (Словенія), "Гемамеліс" (Швейцарія, Росія), які офіційно зареєстровані для використання в Україні.

Метою досліджень було одержання калусної біомаси *Gentiana lutea* L. як альтернативного сировинного джерела біологічно активних речовин, комплексне фітохімічне дослідження та порівняльний аналіз з природною біомасою *Gentiana lutea* L.

Насіння *Gentiana lutea*L. введено в культуру in vitro, підібрано схему стерилізації насіння з найбільшим виходом асептичних експлантів (76,4%), підібрано оптимальні умови культивування *Gentiana lutea*L. Живильне середовище Мурасиге-Скуга доповнене індолилоцтовою кислотою (1мг/л), 1-нафтилоцтовою кислотою (0,6 мг/л), кінетином (1мг/л) і 2,4–дихлорфеноксиоцтовою кислотою (1 мг/л), культивування проведено при 16-годинному фотоперіоді при 3000 лк, температурі 24-26$^0$ С 35 діб, так як за даних умов спостерігається найбільша життєздатність (76,4%).

Отриману калусну біомасу перевірено якісно і кількісно на вміст біологічно активних речовин з метою порівняльного аналізу їх вмісту у рослинній сировині *Gentiana lutea* L. Встановлено наявність та визначено кількість складових речовин фенольної природи

(простих фенолів, поліфенолів, флавоноїдів, дубильних речовин, гідроксикоричних кислот, кумаринів, хромонів, хінонів), полісахаридів, органічних кислот, сапонінів, ліпофільних речовин та сполук стероїдної структури. Визначення суми поліфенолів, танінів, флавоноїдів та суми гідроксикоричних кислот у лікарській рослинній сировині та калусній біомасі проводили спектрофотометрично в перерахунку на пірогалол, рутин,пірогалол та хлорогенову кислоту відповідно. Результати досліджень вмісту фенольних сполук представлено в таблиці.

Кількісний вміст фенольних сполук у досліджуваних об'єктах

| Досліджуваний об'єкт | Вміст фенольних сполук, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n = 6 | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Сума поліфенолів | Сума флавоноїдів | Дубильні речовини | Сума гідроксикоричних к-т |
| Рослинна сировина | 7,18 ± 0,01 | 3,14 ± 0,007 | 3,24 ± 0,01 | 0,21 ± 0,009 |
| Калусна біомаса | 7,96 ± 0,09 | 3,46 ± 0,005 | 4,14 ± 0,02 | 0,20 ± 0,010 |

Здійснено порівняльний аналіз вмісту фенольних сполук методом тонкошарової хроматографії в екстрактах коренів і калусної біомаси *Gentiana lutea* L. - нарінгенін, лютеолін, кверцетин, (-)-епікатехін, (+)-епікатехін, 3,4-гідроксибензойна кислота. Речовини, ідентифіковані в екстрактах калусної біомаси, є такими ж, що і в екстрактах рослинної сировини. Це дозволяє їх вважати потенційною сировиною для одержання комплексу біологічно активних речовин.

Таким чином, завдяки новітньому альтернативному біотехнологічному методу одержано калусну біомасу *Gentiana lutea* L. з вмістом біологічно активних речовин (речовин фенольної природи, полісахаридів, органічних кислот, сапонінів, ліпофільних речовин), вміст яких практично не відрізняється від їх вмісту у рослинній сировині з природи. Окрім того, біомаса отримана у великій кількості за короткий час (40 г сухої речовини на 1 л живильного середовища на 21 добу). Тому альтернативним способом одержання біологічно активних речовин є одержання біомаси рослин методом культури клітин і тканин в умовах *in vitro*. Технологія *in vitro* дозволяє регулювати ріст рослинних клітин і накопичення ними біологічно активних речовин в лабораторних умовах.

**Література:**


1. Биотехнология растений: культура клеток / Пер.сангл. В.И.Негрука; с предисл. Р.Г.Бутенко. М., 1987. 2. Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений. М., 1962.
2. Н. М Солодовніченко, М.С. Журавльов, В.М. Ковальов. Лікарська рослинна сировина та фітопрепарати. - Харків: МТК-книга, 2003.
3. Комендар В.І., Скунць П.М., Гнатюк М.Ю. Зелені перлини Карпат. – Ужгород: Карпати, 1985.
4. Конечна Р. Т. Введення в культуру *in vitro* Gentianapunctate L. та дослідження екстракту калусної маси / Р. Т. Конечна, Р. О. Петріна, Н. В. Толкачова, В. П. Новіков // Проблемы и перспективы исследований растительного мира: Материалы международной научно-практической конференции молодых ученых, 13-16 мая 2014 г. - г. Ялта, 2014. - С. 47.
5. Страшнюк Н. М. (Дробик Н. М.) Фармакологічно активні речовини рослин роду *GentianaL.*, методика їх виділення та ідентифікації / Н. М. Страшнюк (Н. М. Дробик) // «Наукові записки» Тернопільського державного педагогічного університету ім. Володимира Гнатюка. Серія: біологія. - 1999. - №1 (4). - С. 90-95.
6. Конвалюк І.І. Прямий онтогенез *in vitro* тирличу жовтого (Gentianalutea L.) / Конвалюк І.І., Кравець Н.Б., Дробик Н.М., Мельник В.М., Кунах В.А. // Біотехнологія, т.3, №5, 2010. – С. 66-73.
7. Murashige T. //Ann. Rev. PlantPhysiol. – 1974. – 25. – P. 147-148.
8. Нестерук Ю. Рослинний світ Українських Карпат: Чорногора /Ю. Нестерук // Екологічні мандрівки. - Львів: БаК, 2003. - 520с.

**Костеневич А.А., Бирюков Р.Н., Фальковская У.В., Тригубович А.М., Гончарова И.А.**
Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

## КОМПЛЕКСНАЯ ПЕРЕРАБОТКА ОТХОДОВ КОЗЬЕГО МОЛОКА, ОБРАЗУЮЩИХСЯ ПОСЛЕ ВЫДЕЛЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ЛАКТОФЕРРИНА, С ЦЕЛЬЮ ПОЛУЧЕНИЯ ФОСФОТИДИЛСЕРИНА И КАЗЕИНОВЫХ ГИДРОЛИЗАТОВ

*The developed complex technology will enable to produce casein hydrolyxates and phosphotidylserine from waste resulting from recovery of the end product – lactoferrin.*

На протяжении последних лет Беларусь постоянно входит в пятерку ведущих стран — экспортеров молочных продуктов в мире. В то же время в отрасли накопилось достаточное количество проблем, одна из которых получение дополнительной добавленной стоимости вне зависимости от конъюнктуры цен на рынке сбыта. В процессах молочного производства, связанных с получением таких продуктов, как творог, сыр, казеин и других концентрированных белковых продуктов (или их полуфабрикатов) образуется сыворотка, относящаяся к побочным продуктам. Проблема рационального использования молочной сыворотки актуальна для многих предприятий. Решение этой проблемы позволит улучшить экономические показатели за счет производства дополнительной продукции из молочного сырья. Более того, получение казеиновых гидролизатов и фосфотидилсерина планируется из отходов, образующихся после выделения лактоферрина.

Одно из направлений работы в этой области ферментативный гидролиз белков молока с целью производства продуктов специального назначения. На основе пептидов молочных белков в настоящее время уже выпускают продукты функционального питания (Calpis, Япония; Evolus, Финляндия), пищевые таблетированные добавки (Ameal peptide, Япония). Эти продукты прошли клинические испытания, показавшие их способность снижать артериальное давление, регулировать сон, проявлять антистрессовый эффект. На основе гидролизатов белков молока и молочной сыворотки производят жевательную резинку (Recaldent, Австралия) и зубную пасту (Автралия) с ярко выраженным антикариесным эффектом, а также добавку для спортсменов (PeptoPro, Нидерланды). Есть сообщения и о том, что молочные пептиды могут проявлять антимикробные свойства [1-3].

Фосфатидилсерин (ФС) – фосфолипид, присутствующий в мембранах эукариотических и прокариотических клеток, а также жировой фракции молока. Биологические функции ФС чрезвычайно разнообразны. ФС – главный кислотный фосфолипид мозга. Наряду с другими фосфолипидами составляет структуру клеточных мембран. Эти мембранные фосфолипиды играют важную роль в межклеточном сообщении и передаче в клетку биохимических сигналов. Правильное функционирование этих процессов является необходимым для организма человека, особенно для центральной нервной системы. Считается, что ФС улучшает клеточную коммуникацию и метаболизм, оказывая влияние на текучесть клеточных мембран. Доказано, что применение ФС в качестве пищевой добавки влияет на нейронные мембраны и функцию специфических нейротрансмиттеров, включая ацетилхолин, серотонин и дофамин [4-5].

ФС является перспективным биологически активным веществом для фармацевтической промышленности, поскольку фосфолипид имеет множественные положительные свойства и может использоваться и в качестве пищевой добавки, и в качестве терапевтического средства. При этом побочных эффектов при его оральном применении не обнаружено. Стоит отметить, что биологические свойства ФС зависят от его жирнокислотного состава. Наличие ненасыщенных кислот повышает биологическую активность фосфолипида.

Таким образом, препараты на основе казеиновых гидролизатов, а также ФС с высокой биологической активностью могут быть использованы в ветеринарии и пищевой промышленности.

**Литература:**

1. Korhonen, H. Milk-derived bioactive peptides: from science to applications / H. Korhonen // J. Functional Foods. – 2009. – Vol. 1. – P. 177–187.
2. Isolation and identification of antimicrobial peptides derived by peptic cleavage of whey protein isolate / J. Theolier [et al.] // J. Functional Foods. – 2013. – Vol. 5. – P. 706–714.
3. Bioactivity of β-lactoglobulin and α-lactalbumin – technological implications for processing / D. E. W. Chatterton [et al.] // Int. Dairy J. – 2006. – Vol. 16. – P. 1229–1240.
4. Effects of phosphatidylserine in age-associated memory impairment / T.H. Crook [et al.] // Neurology. – 1991. – Vol. 41, № 5. – P. 644–649.
5. Use of phosphatidylserine in Alzheimer's disease / L. Amaducci [et al.] // Ann N Y Acad Sci. – 1991. – Vol. 640. – P. 245–249.

**Костеневич А. А., Павлюк А. Н., Сапунова Л. И.**
Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

## МОЛОЧНАЯ СЫВОРОТКА КАК ОСНОВА ПОЛУЧЕНИЯ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ β-ГАЛАКТОЗИДАЗЫ БАКТЕРИАЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

*It was found that milk whey caused comparable to lactose effect on synthesis of β-galactosidase by Arthrobacter sulfonivorans BIM B-499-D and consequently it may be used as component of industrial nutrient medium for production of enzyme preparation.*

**Введение.** Одной из проблем современной молокоперерабатывающей индустрии является утилизация молочной сыворотки – отхода производства кисломолочных продуктов. Невзирая на низкую стоимость, высокую биологическую и пищевую ценность проблема ее рационального использования или безотходной переработки как никогда актуальна. Так, по данным Международной молочной федерации из 120 млн. т. сыворотки, получаемой ежегодно в мире, около половины отправляется в канализацию и водоемы, нанося ощутимый ущерб природе. В то же время в странах с высоким уровнем развития биотехнологии уже сегодня утилизируется от 70 до 95 % сыворотки, что позволяет получать разнообразные высококачественные продукты, существенно ослабив или практически полностью устранив вредные экологические последствия от ее сброса в окружающую среду.

Одним из активно разрабатываемых направлений рационального использования молочной сыворотки является получение β-галактозидазы (лактазы, β-галактозид-галактогидролазы, КФ 3.2.1.23), которая катализирует реакции гидролиза и трансгалактозилирования молочного сахара – лактозы. Фермент применяют как лекарственное средство при лактозной интолерантности, в производстве глюкозо-галактозных сиропов, безлактозных молочных продуктов и кормовых добавок, галактоолигосахаридов [1–3]. В Беларуси препараты β-галактозидазы не производятся, хотя объемы переработки молока и количество содержащих лактозу отходов постоянно возрастают, наряду с увеличением доли населения с лактазной недостаточностью. Ранее нами разработан способ получения β-галактозидазы уникальной для прокариот внеклеточной локализации, предусматривающий выращивание бактерий *Arthrobacter sulfonivorans* БИМ В-499-Д в среде с лактозой [4].

**Целью работы** явилась оценка эффективности замены лактозы молочной сывороткой – дешевым и недефицитным компонентом питательной среды для культивирования бактериального штамма-продуцента β-галактозидазы.

**Материалы и методы.** Штамм *A. sulfonivorans* БИМ В-499-Д выращивали глубинно в среде с лактозой или молочной сывороткой (0–3,0 вес. %) при 27 ± 2 °С в течение 2 сут. Накопление биомассы определяли из графика, отражающего зависимость оптической плотности суспензии клеток бактерий ($ОП_{540}$) от их весового количества, и выражали в мг/мл культуральной жидкости. Активность β-галактозидазы определяли согласно [5] с о-нитрофенилгалактозидом в качестве субстрата и выражали в ед/мл культуральной жидкости или ед/мг белка. За единицу активности принимали количество фермента, высвобождающего из субстрата 1 мкмоль о-нитрофенола за 1 мин (pH 7,0; 40 °С).

**Результаты и выводы.** Исследования показали, что оптимальная концентрация лактозы, обеспечивающая максимум (26,2 ± 1,31 ед/мл) синтеза β-галактозидазы *A. sulfonivorans* БИМ В-499-Д, составляет 1,5 %. Повышение содержания дисахарида в среде до 3,0 % приводит к усилению роста бактерий в 1,6 раза и угнетению образования фермента в 120 раз.

Показано, что молочная сыворотка, содержащая в среднем около 60 % лактозы, оказывает сравнимый с ней эффект на образование β-галактозидазы *A. sulfonivorans* БИМ В-499-Д

(рисунок, б). Максимальное накопление фермента бактериями достигало 25,5 ± 1,28 ед/мл при исходном содержании сыворотки в среде 2,0–2,5 % (1,2–1,5 % по содержанию лактозы).

Отмечено, что при повышении содержания в питательной среде молочной сыворотки, так же как и лактозы, выше оптимальной концентрации количество бактериальной биомассы увеличивается при снижении эффективности продукции фермента и величины его удельной активности. Возможно, выявленная закономерность является следствием часто имеющей место репрессии синтеза β-галактозидазы глюкозой или галактозой [6], которые в избытке образуются в результате ферментативного гидролиза лактозы, или преобладанием трансгалактозидазной активности фермента над гидролазной при высоких концентрациях дисахарида [7]. Предметом дальнейшего изучения станет выявление механизмов регуляции синтеза β-галактозидазы у *A. sulfonivorans* БИМ В-499-Д и условий преимущественного протекания катализируемых ферментом реакций гидролиза и трансгалактозилирования.

**Литература**

1. Kosseva M.R., Panesar P.S., Kaur G., Kennedy J.F. processing of cheese whey // Int. J. Biol. Macromol. – 2009. – Vol. 45. – P. 437–447.
2. Husain Q. β-Galactosidase and their potential applications: a review // Critic. Rev. Biotechnol. – 2010. – Vol. 30, № 1. – P. 41–62.
3. Park A.R., Oh D.K. Galacto-oligosaccharide production using microbial β-galactosidase: current state and perspectives //Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2010. – Vol. 85. – P. 1279–1286.
4. Способ получения внеклеточной β-галактозидазы / Патент 15050 Республики Беларусь, заявл. 14.07.2009; опубл. 28.02.2011.
5. Kuby S.A., Lardy H.A. Purification and kinetics of β-galactosidase from *E. coli*, strain K-12 // J. Amer. Chem. Soc. – 1953. – Vol. 75, № 4. – P. 890–896.
6. Sanchez J., Hardisson C. Glucose inhibibion of galactose-induced synthesis of beta-galactosidase in *Streptomyces violaceus* // Arch. Microbiol. – 1980. – Vol. 125, № 1–2. – P. 111–114.
7. Park A.R., Oh D.K. Effects of galactose and glucose on the hydrolysis reaction of a thermostable beta-galactosidase from *Caldicellulosiruptor saccharolyticus* // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2010. – Vol. 85, № 5. – P. 1427–1435.

**Кричковська А.М., Болібрух Л.Д., Журахівська Л.Р., Марінцова Н.Г., Кушнір Н.В., Губицька І.І., Хоменко О.І., Новіков В.П.**
Національний університет «Львівська політехніка», кафедра Технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології, МОН України, Львів, Україна

## ПРОБЛЕМИ БІОЕТИКИ ТА БІОБЕЗПЕКИ: ЗАСТОСУВАННЯ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ТЕХНОЛОГІЙ У ФАРМАЦІЇ

*Analysis of the practical application of alternative biological and biotechnological methods for testing drugs on dehydrogenized is comparative. That the use of alternative methods for quality control of drugs in pharmacy can solve several problems of bioethics and biosafety are established and prevented.*

**Вступ**. Система стандартизації і сертифікації біотехнологічної і фармацевтичної продукції в Україні є чітко регламентованою. Стандарт МОЗ України «Фармацевтична продукція. Система стандартизації» СТ МОЗУ 42-1.0:2005 установлює мету, принципи та основні завдання стандартизації фармацевтичної та біомедичної продукції, суб'єкти та об'єкти стандартизації, види нормативних документів та організацію робіт зі стандартизації. Основним регламентуючим документом є Державна фармакопея України (ДФУ) [1]. ДФУ містить такі розділи: «Загальні зауваження», «Методи аналізу», «Матеріали для контейнерів і контейнери», «Реактиви», «Загальні тексти», «Субстанції та лікарські форми», «Монографії». Методи фармакопейного аналізу описані в розділі 2 ДФУ. Ряд цих випробувань проводиться із застосуванням біологічних, мікробіологічних та біотехнологічних методик. Наприклад, Підрозділ 2.6. «Біологічні випробування» розділу 2 «Методи фармакопейного аналізу» ДФУ включає визначення стерильності та попередження мікробного забруднення, визначає склад та спосіб приготування живильних середовищ, а також тест-мікроорганізми з видовою назвою та рекомендованими штамами. Описані методики проведення досліджень є чітко регламентовані. Для визначення пірогенності описано методику відбору тварин, правила їх утримання та методику проведення дослідження. Також включено альтернативний метод випробування на бактеріальний ендотоксин, що носить рекомендаційний характер. Підрозділ 2.7. «Біологічні методи кількісного визначення» розділу 2 «Методи фармакопейного аналізу» ДФУ включає кількісне визначення антибіотиків мікробіологічним методом. Для цього наведено способи приготування інокулята з рекомендованих тест-мікроорганізмів та приготування живильних середовищ.

**Метою** нашого дослідження було проведення порівняльного аналізу випробування на наявність пірогенів у парентеральних лікарських засобах (ЛЗ) відповідно до вимог статті ДФУ «пірогени» (2.6.8) або «бактеріальні ендотоксини» (2.6.14), а також аналіз практичного досвіду проведення даного випробування на фармацевтичних підприємствах та сертифікованих лабораторіях м. Львова.

**Матеріали та методи**. У дослідженні використовували мета-аналіз, а також методи кабінетних і польових досліджень для збору даних на фармацевтичних підприємствах та сертифікованих лабораторіях м. Львова з практичного виконання випробування на наявність пірогенів.

**Результати**. Випробуванню на наявність пірогенів підлягають всі ЛЗ для парентерального застосування незалежно від дози, об'єму і шляху введення, використовуваних у клініці. Випробування на наявність пірогенів проводять відповідно до вимог статті «пірогени» (2.6.8) або «бактеріальні ендотоксини» (2.6.14). Випробування на пірогени полягає у вимірюванні підвищення температури тіла, спричиненого у кроликів внутрішньовенним введенням стерильного розчину випробовуваного ЛЗ. Випробування на бактеріальні ендотоксини (LAL-тест) полягає у додаванні до випробовуваного розчину лізату ендотоксинів та появи каламутності при їх наявності. Існує 6 методів випробування на ендотоксини. Заміна випробування на пірогени на кроликах LAL-тестом фактично означає використання альтернативного методу аналізу. Якщо випробування на бактеріальні ендотоксини не зазначене в

окремій статті, препарат має витримувати випробування на пірогени, описане для ін'єкційних або внутрішньовенних інфузійних ЛЗ.

Нами були опрацьовані та згруповані переваги та недоліки двох методів випробувань, що представлені у таблиці 1.

Таблиця 1

Переваги та недоліки методів ДФУ випробування ЛЗ на апірогенність

| Переваги/недоліки методу | Назва методу | |
|---|---|---|
| | Проведення випробування на кроликах | Випробування на бактеріальні ендотоксини |
| Переваги методу | 1. Традиційний метод контролю.<br>2. Стандартизована методика для всіх парентеральних засобів.<br>3. Метод не вимагає додаткового обладнання.<br>4. Достатня чутливість методу випробування. | 1. Альтернативний метод аналізу.<br>2. Висока чутливість.<br>3. Вибірковість методу.<br>4. Об'єктивність випробування.<br>5. Простота інтерпретації результатів випробування. |
| Недоліки методу | 1. Наявність віварію та, відповідно, обслуговуючого персоналу.<br>2. Дотримання умов утримання та підготовки піддослідних тварин.<br>3. У разі сумнівного результату – повторне проведення дослідження.<br>4. Високий ступінь суб'єктивності.<br>5. Результати випробування вимагають додаткових розрахунків. | 1. Наявність перешкоджаючих факторів та необхідність їх усунення.<br>2. Необхідність проведення двох паралельних проб.<br>3. Наявність стандартизованих лізатів.<br>4. Наявність спектрофотометра та іншої обладнання. |

Проведений нами аналіз практичного досвіду застосування даного випробування на фармацевтичних підприємствах та у сертифікованих лабораторіях м. Львова дозволив встановити, що випробування на кроликах на апірогенність ЛЗ не проводяться. Найчастіше з шести альтернативних методів обирають метод гель-тромб тест, оскільки він є найменш вартісний (не потрібно оптичного зчитувача). Крім того, спосіб гель-тромб може бути методом вибору для непрозорих зразків, суспензій або забарвлених зразків.

Гуртовими посередниками для придбання необхідних LAL-систем сертифікованими лабораторіями та фармацевтичними підприємствами на фармацевтичному ринку України виступають: Українсько-Нідерландське СП з обмеженою відповідальністю «Айпекс-Україна» м. Київ, ТОВ «АЛСІ» м. Київ, ТОВ «Адвантекс» м. Київ.

Проведений аналіз виробників LAL-систем дозволив встановити, що LAL-системи та LAL-тести, які застосовуються у практичній діяльності на фармацевтичних підприємствах, на жаль, іноземного виробництва: LAL-buffer Pyrosol, LAL-reconstitution виробник CAPE COD incorporated (USA), PYROGENT® Plus (PYROGENT LAL-реактив с відповідним контрольним стандартом ендотоксину) та PYROGENT® гель-тромб тест виробник Lonza (Швейцарія).

**Висновки.** При можливості заміни випробовування на кроликах на випробовування на бактеріальні ендотоксини необхідно вносити ці зміни у нові статті дфу, оскільки останній метод є альтернативним, більш чутливим та забезпечує об'єктивність випробовування. Також він дозволяє вирішити ряд питань біоетики та біобезпеки, позаяк не потребує утримування та утилізації використаного біологічного матеріалу.

**Література**:

1. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – 556 с.

**Крилова К.Д., Сергєєва Ж. Ю., Бабенко Д. О., Басюл О. В., Горшкова О. Г., Дубровіна О. А., Іваниця В.О.**
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, Одеса, Україна

## ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ БАКТЕРІЙ, ІЗОЛЬОВАНИХ З РОСЛИН, НА ЗБУДНИКІВ ХВОРОБ ОВОЧЕВИХ КУЛЬТУР

*Modern agriculture is more and more obsessed with ecofriendly methods. Bacteria from the genus Bacillus and Lactobacillus belong to the PGPB group. The aim of the work was to determine the antagonistic effect against phytopathogenic Erwinia carotovora, Ralstonia solanacearum, Rhizobium tumephaciens of the newly isolated bacilli and lactobacilli strains. In the experiments in vitro and in vivo from 133 bacterial strains there were selected 4 strains: B. cereus* ОНУ 481, *B. megaterium* ОНУ 500 і *L. plantarum* ОНУ 522, *L. rhamnosus* ОНУ 524 *as the most perspective antagonists of phytopathogens.*

Застосування в сучасному землеробстві та сільському господарстві методів, які базуються на антибіотикотерапії фітопатогенів, на внесенні важких металів або вирощуванні генетично модифікованих рослин привело до забруднення грунту, зміни біоценотичного мікробного різноманіття та накопичення в організмах тварин і людини речовин, що мають негативний, а дуже часто й терато-/онкогенний ефект [1]. Окремо слід зазначити небезпеку антропогенного тиску на фітопатогенні бактерії і гриби, що провляється в збільшенні в таких районах мультирезистентних штамів патогенних бактерій, зменшенні видового різноманіття за рахунок домінування якогось одного виду або, навіть, штаму та поширені серед фітопатогенів стійкості до сучасного хімічного арсеналу фермера [2].

Потреби екоземлеробства, що набуває популярності і в Україні, вимагають використання екологічних «дружніх до природи» методів боротьби з фітопатогенами; також категорично заборонено застосування мінеральних добрив та різноманітних хімічних стимуляторів росту рослин. Методи біологічного контролю з використанням бактерій-антагоністів, їх бактеріоцинів та бактеріофагів, належать саме до таких, що відповідають усім вищезазначеним вимогам [3]. Представники родів *Bacillus* і *Lactobacillus* широко відомі здатністю синтезувати як регулятори і стимулятори росту рослин, тому їх відносять до групи PGPB (**p**lant **g**rowth **p**romoting **b**acteria), так і антагоністичні/антибіотичні речовини, що робить їх перспективними для створення біопрепаратів [3, 4].

Метою дослідження було виявленння антагоністичних щодо фітопатогенних бактерій і штамів бактерій родів *Bacillus* і *Lactobacillus,* ізольованих з ферментованих рослин. В роботі було використано 103 штами *Lactobacillus* sp. і 30 штамів *Bacillus* sp., ізольованих з ферментованої капусти, листя гірчиці, баклажанів, і 15 штамів фітопатогенних бактерій – *Erwinia carotovora*, *Ralstonia solanacearum*, *Rhizobium tumephaciens*. Визначеня антагоністичної активності проводили методом переколів на газон індикаторного штаму фітопатогенних бактерій і методом лунок у 2% агарі. Штами фітопатогенних бактерій і представників роду *Bacillus* вирощували на середовища ЛБ за температури 28 ˚С, представників роду *Lactobacillus* інкубували за тієї ж температури на середовищі MRS.

Під час скринінгу анатагоністичної активності відносно фітопатогенних бактерій серед ізольованих штамів роду *Bacillus* було показано, що 70% досліджених штамів здатні пригнічувати ріст фітопатогенів. Серед них було відібрано 5 штамів з максимальною активністю. Найбільші за діаметром зони затримки росту постійно утворювали штами-антагоністи ОНУ 500 і ОНУ 481 майже на усіх штамах *E. carotovora*. Штам ОНУ 484 затримував ріст майже усіх фітопатогенів алк на другу добу росту. Відповідно до спектру чутливих до дії антагоністичних речовин штамів фітопатогенів можна з'ясувати ефективність

дії штамів-антагоністів бактерій роду *Bacillus*. Чим більше фітопатогенних штамів є чутливими до дії антагоністичних речовин з утворенням зон затримки росту 10 мм і більше в діаметрі, тим вищою є ефективність штама-антагоніста. В наших дослідженнях найбільш ефективним штамом-антагоністом виявився штам ОНУ 481, який утворював зони затримки росту діаметром від 7 до 15 мм на 24 години на 83% і на 48 годин на 92% штамів фітопатогенних ервіній. Наступним за ефективністю є штам ОНУ 500, який утворював зони затримки росту діаметром від 5,5 до 11 мм відповідно на 75% і 92% штамів фітопатогенних ервіній.

Крім того, було перевірено захисну активність штамів-антагоністів роду *Bacillus* по відношенню до штамів-фітопатогенів *E. carotovora* у системі *in vivo*: на бульбах картоплі і коренеплодах моркви. Найбільш придатним до використання у створенні біопрепарату для захисту рослин є штам ОНУ 500, ефективність дії якого на картоплі становила 100%, а на моркві майже 63%.

Серед ізольованих штамів молочнокислих бактерій стабільно високі показники антагоністичної активності до обраних фітопатогенів реєструвалися лише для чотирьох штамів: ОНУ 520, ОНУ 523, ОНУ 524, ОНУ 522. Середній діаметр зон сповільнення росту для них становив 13-15 мм. Встанволено, що антагоністична активність дослідних штамів *Lactobacillus* не пов'язана з виділенням кислоти. У дослідах *in vivo* ефективність дії штамів-антагоністів роду *Lactobacillus* ОНУ 522 і ОНУ 524 виявилась більшою на коренеплодах моркви (100%) ніж на бульбах картоплі (83,7% і 85,6 % відповідно). Паралельно було проведено видову ідентифікацію штамів-антагоністів фітопатогенних бактерій

Таким чином, було відібрано штами-антагонисти *B. cereus* ОНУ481, *B. megaterium* ОНУ500 і *L. plantarum* ОНУ 522, *L. rhamnosus* ОНУ 524, які харктеризуються широким спектром активності відносно фітопатогенних бактерій родів *Erwinia*, *Rhizobium* та *Ralstonia*. Встановлено захисну дію відібраних штамів-антагонистів від проявів м'якої гнилі на бульбах картоплі та коренеплодах моркви.

**Література**

1. *Ohkama-Ohtsu N., Wasaki J.* Recent progress in plant nutrition research: cross-talk between nutrients, plant physiology and soil microorganisms // Plant Cell Physiol. – 2010. – Vol. 51. – P. 1255 – 1264.
2. *Mansfield j., Genin S., Magori S.* et al. Top 10 plant pathogenic bacteria // Mol. Plant path. – 2012. – Vol. 13, № 6. – P. 614–629.
3. *Lindow S. E., Brandl M. T.* Minireview: microbiology of the phylloshere // Appl. Environm. Microbiol. – 2003. – Vol. 69. – P. 1875 – 1883.
4. *Merlich A.G., Ivanytsia V.O., Korotaeva N.V., Zlatogurska M.A., Vasylieva N.Yu., Babenko D.O., Limanska N.V. Lactobacillus plantarum* from berries of grape cultivated in the south of Ukraine // Microbiology and Biotechnology. – 2013. – Vol. 23, № 3. – P. 31-39.

**Круть В.В., Данкевич Л.А., Патика В.П.**
Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, Київ, Україна

## ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД КЛІТИННИХ ЛІПІДІВ НОВИХ ЕНТОМОПАТОГЕННИХ ШТАМІВ *BACILLUS SP.*

*The chemo taxonomic analysis of new entomopathogenic Bacillus sp. strains and typical of representatives the Bacillus genus has been carried out. It has been shown the significant similarity of fatty acid composition s of cells lipid of isolated Bacillus sp. strains with representatives of the species B. thuringiensis and B. cereus.*

**Вступ.** Необхідність широкого впровадження біологізації землеробства на сьогодні набула особливого значення. Досвід розвинених країн свідчить, що це економічно вигідний та екологічно безпечний шлях. Тому біологізація землеробства на теренах України у найближчому майбутньому має бути основним напрямом розвитку аграрного комплексу. Суттеве значення для поступу даного процесу відіграє використання екологічно безпечних біологічних засобів захисту рослин від хвороб та шкідників. Серед яких чільне місце займає використання мікробних препаратів, зокрема на основі бактерії роду *Bacillus*. Як відомо бактерії даного роду є продуцентами ряду антибіотиків, ферментів, гормонів, токсинів тощо. Зокрема, окремі види та підвиди роду *Bacillus* здатні продукувати спорокристалічні комплекси з токсичною для комах різних видів дією. Найбільш відомими продуцентами даних сполук є представники виду *Bacillus thuringiensis.* Але незважаючи на значний біосинтетичний потенціал представників даного виду спектр вітчизняних мікробних препаратів на основі *B. thuringiensis* вкрай обмежений. Саме тому у попередніх наших дослідженях було ізольовано штами бактерій роду *Bacillus* і перевірені їх ентомопатогенні та ключові біологічні властивості. Зважаючи на зазначене вище **метою даних** досліджень був аналіз жирнокислотного складу клітинних ліпідів нових штамів *Bacillus* sp. а також колекційних штамів для їх коректної видової ідентифікації.

**Матеріали і методи.** Для вивчення жирнокислотного складу клітин культивували на КА протягом 24 годин за температури 28 $^0$C. Метилові ефіри жирних кислот одержували наступним чином: гідроліз клітин проводили в 1,5% розчині сірчаної кислоти у метанолі протягом години за 80$^0$C, з наступною екстракцією сумішшю ефір-гексан (1:1). Ідентифікацію метилових ефірів жирних кислот проводили за допомогою хромато-масс-спектрометричної системи Agilent 6800N/5973 inert. Метилові ефіри ідентифікували автоматично за часом їх утримання в порівнянні зі стандартами. Вміст жирних кислот визначали за допомогою програмного забезпечення Agilent ChemStation і відображали у % від загальної площі піків.

**Результати та їх обговорення.** У жирнокислотних спектрах усіх досліджуваних штамів виявлені жирні кислоти з довжиною вуглецевого ланцюгу від $C_{10}$ до $C_{18}$ атомів, а саме: ненасичені – гексадеценову ($C_{16:1}$), 15 - метил гексадеценову ($C_{17:1\ iso}$) та cis-9 октадеценову кислоти ($C_{18:1\ cis\ 9}$); насичені – додеканову ($C_{12:0}$), 11-метил додеканову ($C_{13:0\ iso}$), тридеканову ($C_{13:0}$), 12-метил тридеканову ($C_{14:0\ iso}$), тетрадеканову ($C_{14:0}$), 13-метил тетрадеканову ($C_{15:0iso}$), 12-метил тетрадеканову ($C_{15:0anteiso}$), 13-метил тетрадеканову ($C_{15:0iso}$), 12-метил тетрадеканову ($C_{15:0anteiso}$), пентадеканову ($C_{15:0}$), гексадеканову ($C_{16:0}$), 14-метил пентадеканову ($C_{16:0iso}$), 15-метил гексадеканову ($C_{17:0iso}$), 14-метил гексадеканову ($C_{17:0anteiso}$), октадеканову ($C_{18:0}$). Слід відмітити, що характерною особливістю жирнокислотних профілів як ізольованих нами так і колекційних штамів є великий вміст розгалужених жирних кислот (iso- та anteiso- форми), що згідно даних літератури є характерною особливістю більшості видів у складі роду *Bacillus*. Зокрема, у виділених нами штамів вміст iso- та anteiso- форм жирних кислот становить близько 70% від загальної площі піків. Профілі жирних кислот ізольованих нами штамів загалом відповідають закономірностям сформованим Kaneda T., зокрема: вміст ненасичених кислот складає (7,48%), 13-метил тетрадеканова кислота є домінуючою і її кількість в середньому

становить 16,5% від загальної площі піків. У складі жирних кислот клітинних ліпідів даних штамів переважають кислоти з довжиною вуглецевого ланцюгу від 12 до 17 атомів.

Таблиця 1. Кількісний вміст окремих жирних кислот у ліпідах клітин представників ізольованих та колекційних штамів роду *Bacillus*

| Жирні кислоти* | Штам, вид | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ізольовані нами штами *Bacillus sp.* (9 шт.) | Колекційні штами *B. thuringiensis* (4 шт.) | *B. thuringiensis* B 5681 | *B. megaterium* B 5714 | *B. cereus* B 5650 | *B. sphaericus* B 5901 |
| Сума ненасичених жирних кислот | 7,48±0,11 | 9,01±0,21 | 9,84±0,11 | 3,38±0,31 | 4,35±0,42 | - |
| Кількість $C_{15:0\ iso}$ | 16,5±0,68 | 16,34±0,45 | 27,32±0,03 | 13,33±0,56 | 22,38±0,12 | 3,72±0,12 |
| Довжина вуглецевого ланцюгу присутніх жирних кислот | від $C_{12:0}$ до$C_{17:0}$ | від $C_{12:0}$ до$C_{17:0}$ | від $C_{12:0}$ до$C_{17:0}$ | від $C_{14:0}$ до $C_{17:0}$ | від $C_{12:0}$ до$C_{17:0}$ | від $C_{14:0}$ до $C_{16:0}$ |

Примітка: *Вміст жирних кислот вказаний у % від загальної площі піків; "-" - сполука не виявлена.

За згаданими вище характеристиками ізольовані нами штами *Bacillus sp*, колекційні штами *B. thuringiensis* 297, 293, та 239, еталонний штам *B. thuringiensis* 98 та типові штами *B. thuringiensis* B 5681 і *B. megaterium* B 5714 значно споріднені. Натомість жирнокислотні профілі *B. megaterium* B 5714 та *B. sphaericus* B 5901 мають дещо відмінні від згаданих вище штамів закономірності. **Висновки.** Отже за даними хемотаксономічного аналізу встановлено значну спорідненість ізольовані нами штами *Bacillus sp.* з представниками видів *B. thuringiensis* та *B. cereus*. Тобто, для остаточного з'ясування видового статусу даних штамів необхідно залучення додаткових характеристик.

**Література:**


1. Круть В.В., Данкевич Л.А., Воцелко С.К., Патика В.П. Ідентифікація нових ентомапатогених штамів бактерій роду Bacilllus за ключовими ознаками фенотипу // Агроекологічний журнал − 2015. − №2. −С.112-116
2. Петриченко В.Ф., Тихонович І.А., Коць С.Я., Патика М.В., Мельничук Т.М., Патика В.П. Сільськогосподарська мікробіологія і збалансований розвиток агроекосистем // Вісник аграрної науки. – 2012. − №8. – С. 5–11
3. Bravo A., Gill S. S., Soberon M. Mode of action of Bacillus thuringiensis Cry and Cyt toxins and their potential for insect control // Toxicon. – 2007– 49, N 4 – P. 423–435
4. Kaneda T. Iso- and anteiso-fatty acids in bacteria: biosynthesis, function, and taxonomic significance / T Kaneda // Microbiol Rev.. - 1991 Jun; 55(2): 288–302.

**Крытынская Е.Н., Соловей И.В.**
Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

## ЭЛЕКТРИЧЕСКАЯ РЕАКЦИЯ ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ КЛЕТОК *NITELLA FLEXILIS* НА ДЕЙСТВИЕ ГЛИЦИНА

*We have studied the electrical response of the plasma membrane Nitella flexilis cells, which under the influence of exogenous glycine in concentrations of 0.1-1.0 mmol develops*.

.

**Введение**. Одним из современных направлений биотехнологии служит экологическая биотехнология, нацеленная на определение специфики приоритетных загрязнений окружающей среды на основе биотестирования, как методов оценки степени потенциальной опасности физиологически активных веществ. Основой оценки результатов биотестирования является зависимость доза-эффект. В строго определенных условиях регистрируются изменение биологически значимых показателей исследуемых тест-объектов. Удобным тест-объектом служат клетки харовых водорослей [1]. Геометрия и гигантские размеры клеток *Nitella flexilis* позволяют проводить оригинальные исследования мембранотропных эффектов различных веществ. Используют клетки и в целях мониторинга существующих и скрининга потенциально новых препаратов на основе веществ, обладающих способностью регулировать рост и развитие растений. К веществам такого рода относят и глицин. Известно, что ответом на обработку растения экзогенным глицином служит индукция синтеза ауксина, повышение энергетической эффективности и устойчивости растений [2].

Выбор глицина в качестве объекта для электрофизиологического исследования обусловлен уникальностью его структуры (цвиттерион) и новыми дополненными сведениями о его влиянии на электрические свойства плазмалеммы растительных клеток, содержание цитоплазматического кальция. Существует ряд предположений относительно механизмов, лежащих в основе регистрируемых мембранотропных эффектов. Они предполагают участие ионотропных глутаматных рецепторов в транспорте глицина (ионных каналов, глицин-$H^+$ -котранспортеров), но полная ясность картины до сих пор отсутствует. Это стимулирует ряд исследований, направленных на детализацию мембранотропных эффектов экзогенного глицина, с использованием разных модельных растений. В этой связи, целью работы стало исследование электрической реакции плазматической мембраны клеток *Nitella flexilis*, развивающейся в ответ на действие экзогенного глицина.

**Материалы и методы**. Анализ электрофизиологической реакции клеток *Nitella flexilis* был выполнен с использованием глицина, поставляемого для молекулярной биологии, производителя AppliChem, Германия. В работе использовали стандартную методику микроэлектродных исследований, монофазное отведение потенциала. Экспозиция клеток *Nitella flexilis в* растворах глицина не превышала 5 минут. Было протестировано влияние шести концентраций (ммоль/л) – 0,1, 0,3, 0,5, 0,6, 0,7 и 1. Рабочие растворы глицина готовили на основании искусственной прудовой воды (базовый раствор).

**Результаты**. В результате работы установлены сдвиги электрофизиологических параметров плазматической мембраны. Выявленные в ходе эксперимента зависимости между концентрацией глицина и его эффектом на параметр электрической активности плазматической мембраны, позволяют заключить, что глицин в концентрации 0,1 моль/л индуцирует слабую гиперполяризацию. Сдвиг потенциала в сторону гиперполяризации от стационарного уровня (-120±2,9 мВ) наблюдали на 2 минуте эксперимента. Стабилизация потенциала наступала в течение 5 минут. Новый стационарный уровень превышал ПП на 10 мВ (-130 мВ). Отклонение потенциала было обратимым, что показал отмыв, который проводили с использованием базового раствора. Время отмыва не превысило 6 минут.

При увеличении концентрации до 0,3 ммоль/л среде регистрировали однотипную реакцию, обратимую гиперполяризацию, составляющую 10 мВ (-130 мВ). Регистрируемые отклонения разности электрических потенциалов в сторону деполяризации от контрольного значения под действием глицина наблюдали, начиная с 0,6 ммоль/л. При этой концентрации регистрировали сложное развитие реакции. В течение первых 3 минут отмечали гиперполяризацию до -150 мВ с последующим сдвигом потенциала в противоположную сторону. Выход мембранного потенциала на новый стационарный уровень, который составил -110 мВ, происходил плавно, в течение 8 минут. 1 ммоль раствор глицина вызывал достоверную модификацию разности электрических потенциалов. Сдвиг в сторону деполяризации был существенным и составил 59 мВ (-61 мВ). Смена раствора на базовый приводила к вялотекущему восстановлению первоначального уровня мембранного потенциала. Наблюдаемая нами деполяризация с увеличением концентрации глицина в омывающем клетку растворе, вполне соответствует универсальной первичной биоэлектрической реакции растительной клетки, возникающей под влиянием самых различных абиотических и биотических стрессоров [44].

При 0,1 ммоль/л концентрации достигается наименьшая мембранотропная активность данной аминокислоты. Потенциал стабилизируется на новом уровне, который соответствует -133±2,3 мВ. Последующие концентрации (0,3 и 0,5 ммоль/л) смещают показатели потенциала в том же направлении, индуцируя гиперполяризацию, что подтверждают полученные средние значения -134±4,8 мВ и -130±2,3 мВ, соответственно. Максимальная мембранотропная активность глицина наблюдается при его использовании в концентрации 1,0 ммоль/л. Слабо обратимая деполяризация относительно контрольного уровня. Подобная картина, а именно деполяризация относительно потенциала -125 мВ, отмечается и при более низких концентрациях глицина, составляющих 0,6 и 0,7 ммоль/л. Среднее значения разности электрических потенциалов для данных концентраций снижается до -121±6,0 мВ и -81±3,2 мВ, соответственно.

По полученным средним значениям была построена кривая доза-эффект, отражающая концентрационную зависимость сдвигов мембранного потенциала. На основании полученной кривой доза-эффект определили действующую концентрацию глицина (т.е. концентрацию, при которой регистрировали начальное снижение разности электрических потенциалов), она составила 0,6 ммоль/л. Таким образом, экзогенный глицин вызывает дозо-зависимые сдвиги разности электрических потенциалов плазматической мембраны клеток *Nitella flexilis*, в основе данной биоэлектрической реакции лежит модификация активности ион-транспортных систем, а каких именно и предстоит выяснить.

**Литература:**

1. Ксенобиотики и живые системы: материалы III Междунар. науч. конф., Минск, 22–24 октября 2008 г. / редкол.: В.М. Юрин (отв.ред.) [и др.]. – Минск: Изд. центр БГУ, 2008. – 181 с.
2. Мурашев С.В. Индукция синтеза ауксина, повышение энергетической эффективности и устойчивости растений путем обработки глицином. / Тез. докл. конф. «Инновационные направления современной физиологии растений», ИФР им. К.А. Тимирязева РАН и МГУ им. М.В. Ломоносова. – Москва, 2-6 июня 2013 г.

**Курило В.В., Шиша О.М., Корховий В.І., Ємець А.І.**
Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, Київ, Україна

## ОТРИМАННЯ ТА АНАЛІЗ ТРАНСГЕННИХ ЛІНІЙ ЦУКРОВОГО БУРЯКУ, ЩО МІСТЯТЬ ГЕН *CRY1AC*, ЯКИЙ ЗАБЕЗПЕЧУЄ СТІЙКІСТЬ ДО КОМАХ-ШКІДНИКІВ

*Sugar beet line MM1/2 was transformed by Agrobacterium-mediated transformation using vector construct pRD400-cry1Ac, containing the gene cry1Ac and selectable marker gene neomycinphosphotransferase II (nptII), that conferring resistance to kanamycin. The sugar beet transformants were selected during shoots regeneration phase on the medium containing 1 mg/l benzylaminopurine (BAP), 100 mg/l kanamycin as the selective agent, and 250 mg/l cefotaxime for elimination Agrobacterium. Integration of cry1Ac gene into the genome of transgenic lines was confirmed by PCR analyses.*

**Вступ.** Цукровий буряк (*Beta vulgaris* L.) для країн помірної кліматичної зони є однією з найважливіших сільськогосподарських технічних культур, що забезпечує близько 30% світових поставок цукру [1]. В зв'язку з високою енергетичною цінністю проміжних продуктів переробки цукрового буряку, його розглядають як ефективну сировину у виробництві біоетанолу [2].

Нажаль, щороку значна кількість цукрового буряку гине внаслідок несприятливих умов навколишнього середовища, ураження різноманітними хворобами і пошкодження шкідниками. Шкідники цукрових буряків представлені значним кількісним складом та видовим різноманіттям шкідливої по відношенню до цієї культури ентомофауни. На сьогодні відомо більш ніж 250 шкідників цукрового буряку, що належать до різних класів, рядів і родин.

У зв'язку з цим, а також з огляду на значні матеріальні витрати, пов'язані з використанням інсектицидів, вкрай доцільним є створення сортів і ліній цукрових буряків, стійких до ураження шкідниками [3]. Одним з найбільш ефективних методів боротьби із шкідниками є використання препаратів на основі Bt-білків природної бактерії *Bacillus thuringiensis.* Bt-білки токсичні для широкого кола комах-шкідників, таких як *Lepidoptera* (лускокрилі), *Diptera* (двокрилі), *Coleoptera* (жорсткокрилі). Тому створення та використання генетично модифікованих сортів рослин, що експресують ген даного білка, може призвести до підвищення врожайності культур, а також до зменшення використання інсектицидів, що буде мати позитивний вплив на довкілля.

**Метою** даної роботи було створення та молекулярно-генетичний аналіз генетично-модифікованих ліній цукрового буряку *(Beta vulgaris* L.*)*, які б експресували ген стійкості до комах-шкідників роду *Lepidoptera* (лускокрилі) та *Diptera* (двокрилі), а саме синтетичний ген *cry1Ac.*

**Матеріали та методи**. В експериментах в якості вихідного матеріалу використовували батьківську селекційну лінію ММ1/2 (селекційний запилювач за гетерозисної селекції) цукрового буряку (*Beta vulgaris L.*), люб'язно надану Інститутом біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН України. Для генетичної трансформації використовували штам *A. tumefaciens* LB4404, що містив бінарну векторну конструкцію pRD400-*cry1Ac*, до складу якої входили цільовий синтетичний ген *cry1Ac* та селективний маркерний ген неоміцинфосфотрансферази II (*npt*II), що забезпечує стійкість до канаміцину. Векторна конструкція була люб'язно надана І. Алтосааром (Університет Оттави, Канада).

Генетичну трансформацію проводили за методикою, описаною нами раніше [4]. Для підтвердження інтеграції гена інтересу в геном рослин буряку, регенерованих на

селективному середовищі, було проведено молекулярно-генетичний аналіз за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Для цього використовували пару праймерів специфічних до гена *cry1Ac* 5′- CTAGAATCAGGACCCCAGACACGCTC-3′ (R) та 3′-CAGCTATCCCATTGTTCGCAGTCC- 3′ (F) з ампліфікацією ПЛР-продукту розміром 244 п.н. ДНК із рослин виділяли за допомогою ЦТАБ-методу [5]. ПЛР проводили протягом 35 циклів за наступних умов: денатурація – $94^0$C (30 с), віджиг – $59^0$C (30 с), синтез – $72^0$C (1хв), елонгація – $72^0$C (7хв).

**Результати.** У ході роботи нами було отримано ряд ліній цукрового буряку, що нормально росли та розвивалися в умовах селективного тиску. За морфологією трансгенні рослини-регенеранти не відрізнялися від контрольних рослин. Відібрані лінії були укорінені на середовищі MS, що містило 0,5 мг/л нафтилоцтової кислоти (НОК), яка сприяє коренеутворенню цукрового буряку в умовах *in vitro*. Для підтвердження трансгенної природи відселектованих ліній цукрового буряку було проведено ПЛР-аналіз на наявність у їх геномі послідовності, що кодує ген інтересу – *cry1Ac*. Для цього було використано специфічні праймери до гену *cry1Ac*, що були синтезовані в нашому інституті. У результаті було встановлено наявність цільового гена у трансформованих рослин. В подальшому усі лінії, трансгенна природа яких була підтверджена за допомогою ПЛР-аналізу були адаптовані до умов закритого грунту для їх тестування на стійкість до комах-шкідників.

**Висновок.** Таким чином, нами були отримані трансгенні лінії цукрового буряку, які містять ген стійкісті до комах-шкідників рядів *Lepidoptera* і *Diptera cry1Ac*. Отримані нами лінії є основою для створення нових стійких до комах-шкідників сортів цукрових буряків.

**Література:**

1. Sugar beet production: a system dynamics model and economic analysis / Rozman Č., Kljajić M., Pažek K. // Organizacija – 2015. – V.48, №3. – P.145-154.
2. Bioethanol production from intermediate products of sugar beet processing with different types of *Saccharomyces cerevisiae* / Rankovic J., Dodic J., Dodic S. [et al.] // Chem. Ind. & Chem. Engineer. Quarter. – 2009. – V.15, № 1. – P.13−16.
3. Литвин Д. И. Получение трансгенных линий сахарной свеклы, экспрессирующих гены устойчивости к насекомым-вредителям *cry1C* и *cry2A* / Литвин Д. И., Сивура В.В., Курило В. В. [та ін.] // Цитология и генетика – 2014. – Т.48, №2. – С. 3-11.
4. Отримання трансгенних ліній цукрового буряку, що містить ген стійкості до комах-шкідників *cry1Ac* [Електронниій ресурс] / Курило В.В., Ємець А.І. // Наукові доповіді Національного університету біоресурсів і природокористування України – 2015. – Т.53 – № 4. – 12 с. Режим доступу:http://nd.nubip.edu.ua/2015_4/5.pdf
5. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA / Murray M.G., Thompson W.F. // Nucleic Acids Research. – 1980. – V.8, №19. – P.4321-4325.

**Леденьов С.Ю.[1], Семено О.В.[2]**
Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка НАН України, Київ, Україна

## ЗАСТОСУВАННЯ ЕКСТРАКТІВ ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИН-ІНСЕКТИЦИДІВ ПРОТИ ШКІДНИКІВ В УМОВАХ ЗАКРИТОГО ТА ВІДКРИТОГО ГРУНТУ

*Experimental research on the action of extracts of medicinal plants for pests in terms of closed and open ground. High efficiency of their application.*

Однією з актуальних проблем сучасного світу є забруднення навколишнього середовища пестицидами при боротьбі з комахами-шкідниками. У зв'язку з цим, велике значення набуває проблема розробки альтернативних методів захисту та впровадження в практику інсектицидів рослинного походження. Їх перевага полягає у відсутності шкідливого впливу на грунт і оброблювані рослини при досить високій токсичності їх по відношенню до комах-шкідників. Поряд з цим, різноманітність рослинних препаратів, слабка вивченість їх хімічного складу та спектру дії дають широке поле для наукового дослідження багатьох аспектів теоретичного і практичного плану. У різних країнах для цих цілей робляться спроби використовувати на вирощуваних культурах препарати рослинного походження. Багато з них мають досить високу інсектицидну активність, зберігаючи нетоксичність відносно ссавців і корисної ентомофауни. Розглядаючи екологічну роль вищих рослин по створенню вторинних метаболітів в біоценозах на першому трофічному рівні вони головним чином відповідають за конкурентні міжвидові взаємовідношення рослин між собою, і з сапрофітною грунтовою мікрофлорою.

Рослинні інсектициди діють на комах і кліщів як контактні або кишкові препарати. Відомості про велику кількість інсектицидних рослин (близько 3000 видів) містилися в довіднику, підготовленному в США (Grainge, Ahmed, 1988). В останні роки в багатьох країнах проводиться пошук різних видів рослин з різних ботанічних родин найбільш ефективних проти шкідливих організмів, в тому числі і комах-шкідників. Зазначалося зникнення попелиць (Aphis craccivora і A. gossypii) після обробки екстрактами з різних частин деревію звичайного (*Achillea millefolium* L.), пижма звичайного (*Tanacetum vulgare* L.), ромашки лікарської (*Chamomilla recutita* (L.) Rausch.), роману фарбувального (*Anthemis tinctoria* L.). Знайдено, що екстракт з деревію звичайного мав найбільший за інсектицидною дією вплив на попелиць.

Наша мета – ширше застосування альтернативного підходу до обробки рослин закритого та відкритого грунту не хімічними препаратами, а інсектицидними рослинами, що є також одним з шляхів вирішення екологічних проблем.

В цьому напрямку ми працюємо з такими інсектицидними рослинами як: хвилівник звичайний (*Aristolochia clematitis* L.), полин гіркий (*Artemisia absinthium* L.), тютюн справжній (*Nicotiana tabacum* L.), хвощ польовий (*Equisetum arvense* L.). Використання цих рослин, як один із методів боротьби з комахами-шкідниками є екологічно безпечним і не призводить до забруднення оточуючого середовища хімічними препаратами.

Інсектицидні властивості рослин обумовлені наявністю в них природних хімічних

сполук – алкалоїдів, глікозидів, сапонінів, складних ефірів, ефірних масел, терпеноїдів і флавоноїдів та інших сполук, що не несуть загрози оточуючому середовищу, але згубні для шкідливих комах. Дослідним шляхом було випробувано настій хвилівника звичайного як базового інсектицидного препарату. Основними діючими речовинами рослини є: алкалоїд аристолохін, аристолохієва кислота, фенолкарбонові кислоти. Експериментальна робота виконувалася в умовах закритого грунту та на ділянках НБС України ім. М.М. Гришка. Пошкоджуваність рослин вивчалася шляхом маршрутних обходів і спостережень.

Дослідженню піддавалися рослини, уражені відомими шкідливими комахами, в основному, попелицями і червецем. Червець (Pseudococcus), що відноситься до сисних комах, відкрито живиться на рослинах, добре помий окомірно. До сисних шкідників відноситься і попелиця, обробка якої інсектицидними рослинами нами також проводилася. В данному випадку дія препарату вивчалася на деревці лимону (Citrus limon Lindl.), ураженного борошнистим червецем (Pseudococcus longispinus) в умовах закритого грунту. В умовах відкритого грунту проводилася обробка ділянки з валеріаною лікарською (Valeriána officinális L.). Для обробки уражених рослин готувався відвар з висушеного листя хвилівника звичайного (50 гр листя на 1000 мл води). З отриманого відвару готувалися розчини різної концентрації для обробки рослин. За два місяці з періодичністю в 2-3 неділі було проведено декілька обробок рослини. Результати визначали через три доби після обробки рослин. По кількості загиблих комах визначалась ефективність дії інсектицидного препарату. Було встановлено, що найбільша ефективність дії препарату виявлялась при найвищих концентраціях відвару.

Таким чином наші досліди показали, що відвари отримані на основі хвилівника звичайного мають достатню інсектицидну активність. Причому, як показали досліди, ця активність поширюється на кілька груп шкідників рослин.

**Література:**

1. Ахатов А.К., Ижевский С.С. Вредители тепличных и оранжерейных растений (морфология, образ жизни, вредоносность, борьба). Москва: Товар. науч. изд. КМК, – 2004. – 307 с.
2. Корчагин В.Н., Белолипетский А.В. Защита сада и огорода от вредителей, болезней и сорняков: Справочник. – М.: Колос, 1993. – 318 с.
3. www.liveinternet.ru/urers/5431802/post317857251/

**Леонова Н.О., Данкевич Л.А.**
Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, Київ, Україна

**Leonova N.O., Dankevych L.A.**
Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

## ПРОДУКУВАННЯ ПОЗАКЛІТИННИХ ГОРМОНІВ-ІНДУКТОРІВ РОСТУ І РОЗВИТКУ РОСЛИН ПАТОГЕННИМИ ДЛЯ СОЇ БАКТЕРІЯМИ

## THE PRODUCTION OF EXTRACELLULAR HORMONE INDUCER OF PLANT GROWTH AND DEVELOPMENT BY PATHOGENIC FOR SOYBEAN BACTERIA

*The correlation between extracellular hormone-inducers of plant growth and development synthesis of pathogenic for soybean bacteria, its biology and its interaction with the host plant has been determined.*

*Виявлено кореляцію між синтезом позаклітинних гормонів-індукторів росту і розвитку рослин патогенними для сої бактеріями, їх біологією та взаємодією з рослиною-господарем*

**Вступ.** Серед заходів по збільшенню виробництва продуктів землеробства велике значення має обмеження недоборів і втрат врожаю сільськогосподарських культур, які спричиняються різними шкідниками і хворобами. У зв´язку з інтенсивним атропогенним навантаженням на агроекостеми, дослідники констатують зміну окремих біологічних властивостей патогенів та розширення кола збудників, що уражують рослину [1]. Зокрема відомо, що основними збудниками бактеріальних хвороб сої є: *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* (кутаста плямистість), *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* (пустульний бактеріоз). Крім того, сою також здатні уражувати *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* (дикій опік), *Ralstonia solanacearum* (бактеріальне в'янення). Останнім часом українські дослідники також констатують збільшення ураження сої іржаво-бурою плямистістю (*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*) та бактеріальною смугастістю стебла (*Pantoea agglomerans*) [1]. Відомо, що одним із факторів у боротьбі із розповсюдженням патогенів у природі є розуміння механізмів їх взаємодії із рослиною. Встановлено, що продукування позаклітинних фітогормонів, зокрема ауксинів та цитокінів як в умовах *in vitro* так і *in vivo* патогеними для рослин мікроорганізмами є одним із ключових факторів розвитку хвороб [3]. Зокрема виявлено, що синтез позаклітиних ауксинів і цитокінів *Agrobacterium tumefaciens* та *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* призводить до гіперплазії рослинних тканин і розвитку пухлиноутворення [3, 5]. Але, не зважаючи на актуальність даного напрямку досліджень, відомості щодо синтезу фітогормонів патогеними для рослин бактеріями, що викликають різні види хвороб, є поодинокими. Саме тому, **метою** наших досліджень був кількісний та якісний аналіз позаклітинних ауксинів та цитокінів, що синтезуються фітопатогенними бакеріями сої в умовах *in vitro*.

**Матеріали і методи.** Об´єктами досліджень були наступні штами патогенних для сої бактерій: *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* 8571, *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* 8609, *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* 225, *Ralstonia solanacearum* 9049, *Pantoea agglomerans* 8490, *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* 6564. Штами люб'язно надані із колекції відділу фітопатогенних бактерій. Позаклітинні фітогормони виділяли із супернатантів культуральних рідин бактерій методом екстракції розчинниками: етилацетатом (для ауксинів), pH 3,0 і н-бутанолом (для цитокінінів), pH 8,0. Подальше концентрування та очищення фітогормонів проводили методом препаративно-накопичувальної тонкошарової хроматографії. Визначення якісного і кількісного складу ауксинів і цитокінінів здійснювали методом спектроденситометричної тонкошарової хроматографії [2]. Кількість позаклітинних фітогормонів-стимуляторів розраховували у мкг на 1 г абсолютно сухої біомаси (АСБ) продуцента.

**Результати та їх обговорення.** В ході досліджень виявлено, що патогенні для сої бактерії здатні продукувати широкий спектр індольних сполук. Встановлено, що кількість синтезованих ауксинів та їх спектр значним чином залежать від біології збудника. Зокрема патогени, що здатні окрім сої уражувати ще ряд рослин (поліфаги), *R. solanacearum* 9049*, P. syringae* pv. *tabaci* 225*, C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* 6564 продукують великі кількості ауксинів (від 1512,29 до 948,8 мг/г АСБ). Натомість *X. axonopodis* pv. *glycines* 8609 і *P. savastanoi* pv. *glycinea* 8571, що викликають виключно захворювання сої (монофаги), синтезують значно менші кількості ауксинів (від 445,09 до 147,38 мг/г АСБ). Найвищі рівні синтезу цих індолів спостерігали у штамів *R. solanacearum* 9049 (1256,81 мг/г АСБ), *P. agglomerans* 8490 (1327,0 мг/г АСБ) та *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (1512,29 мг/г АСБ). На наш погляд, досить високий рівень синтезу *P. agglomerans* 8490 ауксинів, зокрема індоліл-3-оцтової кислоти (ІОК), ймовірно, пов'язаний зі здатністю даного виду колонізувати всі компоненти філосфери, оскільки взаємодія з рослиною, в якій важливу роль відіграє ця сполука, характерна особливість його біології [5]. Аналогічна закономірність встановлена нами і для поліфага *C. flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. Зокрема встановлено, що 90% від сумарного пулу синтезованих даним штамом ауксинів становить ІОК, яка, як відмічалося раніше, відіграє важливу роль у взаємодії рослина-патоген. З літератури також відомо, що синтез ауксинів *R. solanacearum* тісно пов'язаний з функціонуванням системи секреції III типу (TTSS). Зокрема регулятор *HrpG,* що відповідає за взаємодію з рослиною та активує каскад реакцій TTSS, контролює не тільки гени, відповідальні за функціонування TTSS, а й гени, що кодують інші фактори вірулентності TTSS-шляху патогенності, включаючи гени контролю синтезу фітогормонів. Тому, *HrpG* мутантні штами *R. solanacearum* майже не здатні синтезувати ауксини [5]. Наведені вище факти, на наш погляд, цілком пояснюють отримані нами цифрові показники кількості синтезованих ауксинів поліфагами. В результаті дослідження цитокінінової активності штамів нами показано, що високий рівень синтезу цитокінінів спостерігається у *R. solanacearum* 9049 (356,78 мг/г АСБ) і *P. agglomerans* 8490 (1913,51 мг/г АСБ). Такий високий рівень синтезу зеатин-рибозиду штамом *P. agglomerans* 8490, ймовірно, пов'язаний з особливостями біології цього виду. Відомо, що даний вид як в епіфітному, так і в ендофітному стані є постійною складовою філосфери і ризосфери рослин. Залежно від умов навколишнього середовища, мікроорганізм може перебувати в неагресивній або навпаки – патогенній для рослин формі [1]. Крім того, як і у випадку пухлиніндукуючих видів, у представників видів *P. agglomerans* і *R. solanacearum* гени *trm/tzs*, відповідальні за синтез цитокінінів та ауксинів, локалізовані в плазмідах, а значить і кількість їх копій значно більша в порівнянні з видами, що мають геномне розташування аналогічних генів [4]. Натомість, решта досліджуваних штамів мають дещо нижчі, порівняно із зазначеними вище штамами, рівні синтезу екзогенних цитокінів (від 194,00 до 50,81 мг/г АСБ). **Висновки.** Синтез позаклітинних гормонів-індукторів росту і розвитку рослин патогенними для сої бактеріями безпосередньо корелює із їх біологією та аспектами взаємодії з рослиною-господарем.

**Література**

1. Гвоздяк Р.І., Пасічник Л.А, Яковлева Л.М., Мороз С.М., Литвинчук О.О., Житкевич Н.В., Ходос С.Ф., Буценко Л.М., Данкевич Л.А., Гринник І.В., Патика В.П. Фітопатогенні бактерії. Бактеріальні хвороби рослин / За ред. В.П. Патики – Київ: ТОВ "НВП "Інтерсервіс", 2011. – 444 с.
2. Савинский С.В., Кофман И.Ш., Кофанов В.И., Стасевская И.Л. Методические подходы к определению фитогормонов с помощью спектроденситометрической тонкослойной хроматографии // Физиол. и биохим. культ. раст. – 1987. – 19, № 2. – С. 210–215.
3. Цавкелова Е.А., Климова С.Ю., Чердынцева Т.А., Нетрусов А.И. Микроорганизмы – продуценты стимулятров роста растений и их практическое применение // Прикл. биохим. и микробиол. – 2006. – 42, № 2. – С. 133–143.
4. Kakimoto Tatsuo. Biosynthesis of cytokinins // Jornal of plant research. – 2003. – No116. – P. 233–239.
5. Spaepen S., Vanderleyden J. Auxins and plant-microbe interactions // Cold spring harbor perspectives in biology. – 2011. – 3(4). pii: a001438. doi: 10.1101/cshperspect.a001438

**Limanska N., Merlich A., Ivanytsia V.**
Odessa National I.I. Mechnikov University, Odessa, Ukraine

## EFFECT OF *LACTOBACILLUS PLANTARUM* ON PHYTOPATHOGENS AND PLANT GROWTH

*Treatments with Lactobacillus plantarum can be recommended for the protection of plants against crown gall and soft rot (caused by Agrobacterium tumefaciens and Erwinia carotovora, respectively). Soaking of seeds in cell free suspensions of lactobacilli as well as in bacterial suspensions of Lactobacillus increased germination of tomatoes in 12-16%, treatment of wheat seeds with 1% of bacterial suspensions - in 20,0 - 36,0%. Mean lenght of wheat seedling roots increased in 9,0 - 22,4%, mean hight of the wheat plants - in 19,2 - 28,0%. Further studies of L. plantarum and their metabolites for possible application in organic agriculture are needed.*

First evidences of succesful treatments of plants and soil with lactobacilli had been described in 1980s (Visser et al. 1986; Higa and Kinjo 1989) but till now there are few publications on this topic in scientific literature. Our investigations during last several years have shown the high potential of application of lactic acid bacteria for organic agriculture (Limanska et al., 2013).

The aim of our investigation was to study the antagonistic and stimulation activity of 31 *Lactobacillus plantarum* strains.

Methods. Lactobacilli were grown overnight on MRS medium at 37°C (de Man et al., 1960) and phytopathogens *Agrobacterium, Ralstonia* and *Erwinia* - on LB medium at 28°C (Bertani, 1952). The prevention of crown gall infection was studied by wounding kalanchoe and tomato plants and carrot explants with a mixture "phytopathogen:lactobacilli" in 1:1 ratio. The effect on *Ralstonia* was studied by soaking roots of tomato seedlings in a "phytopathogen:lactobacilli" mixture. Inhibition of erwinias was revealed on carrot explants. To study the stimulation of plant growth, wheat and tomatoes seeds were used. Wheat grains were soaked in 1% of overnight suspension of *L. plantarum* for 1 hour and after - put in Petry's dishes or planted in pot soil under the greenhouse conditions. After 5 days, germination, mean lenghts of the plants and their roots were evaluated. The effects of *Lactobacillus* cell suspension and their cell-free cultural liquid were compared on tomato plants. In this case, cells washed three times from the cultural liquid and diluted in sterile distillated water till the initial concentration of the overnight suspensions were used as a control.

Results and Discussion. All tested strains of *L. plantarum* showed antagonistic activity against soft rot (*Erwinia carotovora*), crown gall (*Agrobacterium tumefaciens*) and wilt (Ralstoni *solanacearum*) agents on the nutritional medium. *In vivo* lactobacilli supressed crown gall infection in kalanchoe plants in 86,7% to 100%, and in 32,0% to 100% - in carrot explants. It was the effect of low pH of cultural liquid that explained the antagonistic properties of the investigated strains of *L. plantarum*. The majority of *L. plantarum* strains (33,3% i 53,3%) caused the inhibition of soft rot agent at average and high level. Opposite, wilt agent was more resistant to lactobacilli. The majority of *Lactobacillus* strains – 80% - exhibited the low level of *Ralstonia solanacearum* inhibition. Thus, the antagonistic activity against different phytopathogens was the strain-specific capability. Application of *L. plantarum* can be recommended for the protection of plants against crown gall and soft rot, but not against bacterial wilt.

Treatment of wheat seeds with *L. plantarum* 1% suspensions resulted in increasing of the mean lenght of seedling roots in 9,0 - 22,4%, and mean hight of the wheat plants - in 19,2 - 28,0%. Germination was also improved - in 20,0 - 36,0% *in vitro* in Petry's dishes and in 24,0 - 36,0% in pot soil. Cell free liquid of overnight *Lactobacillus* cultures increased the germination of tomato seeds almost the same well as bacterial suspensions did (12% and 16%, respectively). This means

that the metabolites of lactobacilli also have the positive effect on plant germination. The further study of *L. plantarum* metabolites and their possible application in organic agriculture is needed.

The possible reason why lactobacilli are not so widely used in organic agriculture as they could be used - is their strong dependence on rich nutrient media. That's why their rate of survival in soil and on epiphytic surfaces remains questionable. Our investigations have shown that bacteria *Lactobacillus plantarum* could survive on the surfaces of test plants (tomatoes, kalanchoe, grape) at least for one month (Korotaieva et al., 2015). Studies of Hoda et al. (2011) on tomatoes under the field conditions and our experiments on tomatoes and kalanchoe in a greenhouse showed 2-3 months of survival of lactobacilli in soil (unpublished data). So, these terms are sufficient for application of biological preparation - plants and/or soil should be treated with bacterial suspensions several times during the season. The next question which can throw some doubts - the success of competition with other representatives of plant microbiota with higher rates of multiplication under the limited nutritional conditions. Our investigations have shown the complete eradication of the phytopathogen *Agrobacterium tumefaciens* C58 from the surfaces of test plants on the third day of the experiment in case when a mixture of *L. plantarum* and agrobacteria were applied (Korotaieva et al., 2015). Lactobacilli are not so popular biocontrol and biostimulation agents as *Pseudomonas* and *Bacillus* yet - but these lactic acid bacteria have a very important advantage which no other microorganisms have: they possess GRAS status (Generally Recognized As Safe) which means that are absolutely safe to human and animals. That's why lactobacilli without any doubts can be used in organic agriculture.

Conclusion. *L. plantarum* are the perspective microorganisms for plant growth stimulation and protection against phytopathogens. Further studies of *L. plantarum* and their metabolites for possible application in organic agriculture are needed.

**References**

1. Bertani G (1951) Studies on lysogenesis. I. The mode of phage liberation by lysogenic Escherichia coli. J Bacteriol 62: 293-300.
2. De Man JC, Rogosa M, Sharpe ME (1960) A medium for the cultivation of lactobacilli. J Appl Bacteriol 23:130-135.
3. Higa T, Kinjo S (1989) Effect of lactic acid fermentation bacteria on plant growth and soil humus formation. In: Proceedings of 1th Int. Conf. on Kyusei Nature Farming, Khon Kaen, Thailand.
4. Hoda AH, Yomna AM, Shadia MA (2011) *In vivo* efficacy of lactic acid bacteria in biological control against *Fusarium oxysporum* for protection of tomato plant. Life Science J 8:462-468.
5. Korotaieva NV, Limanska NV, Basiul OV, Sergeeva Zh, Ivanytsia VO (2015) The survival of lactobacilli and agrobacteria introduced into plant phyllosphere. Studia Biologica 9: 23-30.
6. Limanska N, Ivanytsia T, Basiul O, Krylova K, Biscola V, Chobert J-M, Ivanytsia V, Haertle T. (2013) Effect of *Lactobacillus plantarum* on germination and growth of tomato seedlings. Acta Physiol Plant 35: 1587-1595.
7. Visser R, Holzapfel WH, Bezuidenhout JJ, Kotze JM (1986) Antagonism of lactic acid bacteria against phytopathogenic bacteria. Appl Environm Microbiol 52:552-555.

**Лукашів О.Я., Вінярська Г.Б.**
Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка, Тернопіль, Україна

## ОТРИМАННЯ ТА БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ СЕЛЕНМЕТАЛЛІПІДНИХ ПРЕПАРАТІВ ІЗ *CHLORELLA VULGARIS* BIEJ.

*By incubation unicellular alga Chlorella vulgaris Biej. in aquaculture with sodium selenite and chrome (III) chloride and sodium selenite and zinc sulfate received and allocated stable lipid and seleniumchromlipid substance and seleniumzinklipid substance and studied their effects on oxidative status in healthy rats experiment. Putting substances at a in healthy rats every day for 14 days suppressed prooxidative processes activated antioxidant status by glutation system in experimental animals in the liver and in blood serum.*

**Вступ**. Однією з основних передумов підвищення продуктивності тварин є використання препаратів для стимуляції обміну речовин [1]. Серед них велика увага приділяється антиоксидантам, зокрема сполукам селену, що використовуються для посилення імунної реактивності і антиоксидантного захисту організму.

Останнім часом одноклітинні водорості використовуються як джерело харчового селену для людини та як кормові добавки у тваринництві, які містять біологічно активні речовини, утворені за рахунок внутрішньоклітинного біосинтезу, та можуть поглинати і накопичувати екзогенні мікроелементи, включаючи їх до складу, насамперед, пігментів, білків і ліпідів [5]. Використовувані нині селенвмісні препарати водоростевого походження («Селен-Спіруліна», «Вітаселен», «Йодоселен», «Кардикорд», «Натур-Мін», «Нутрікон-Селен», «Санатур Спіру-Селен», «Селен Альга Плюс», «Спірулекс+селен») характеризуються змінним вмістом селену та йонів металів, а оскільки не є очищеними, то можуть містити метаболіти з алергенними властивостями [9].

Досить добре зарекомендували себе препарати з хлорели, яка є не тільки джерелом біологічно доступного хлорофілу, низки вітамінів, амінокислот тощо, а й жирних кислот, що володіють антитоксичним [7] чи антисклеротичним ефектами [6, 8]. Щодо біологічної адекватності та механізму дії селенводоростевих субстанцій з хлорели, то нами в попередніх дослідженнях встановлено оптимальні умови накопичення селену та цинку клітинами хлорели в аквакультурі з біологічно адекватним для отримання біодобавок вмістом селену, цинку та складом ліпідів [2].

Тому **метою дослідження** було отримання з *Chlorella vulgaris* в аквакультурі очищеної селенметалліпідної субстанції і вивчення її впливу на оксидативний статус здорових щурів в експерименті.

**Матеріали і методи досліджень.** Із *Chlorella vulgaris* Beij. в умовах культивування (7 діб) на середовищі Фітцджеральда в модифікації Цендера і Горхема №11 при 22-25$^0$С і освітленні 2500 лк 16/8 год з натрій селенітом 10,0 мг Se(IV)/дм$^3$ та 5,0 мг $Zn^{2+}$/дм$^3$ або 5,0 мг $Cr^{3+}$/дм$^3$ виділено шляхом екстрагування сумішшю хлороформ:метанол (2:1) з наступним триразовим промиванням 1% розчином КСl біологічно-активні селенцинкліпідний та селенхромліпідний комплекси.

Хроматографічний та мас-спектрометричний аналіз селенвмісних ліпідів з *Chlorella vulgaris* [4] показав, що селен і цинк присутні в усіх фракціях ліпідів і зв'язуються з ними міцно, оскільки в результаті процедури виділення в їх складі залишається достатньо велика кількість цих мікроелементів, що дозволяє вважати виділений комплекс збалансованим за складом та фізіологічно адекватним.

**Результати досліджень.** При введенні в організм здорових щурів як селенцинкліпідного (розчинений в 1% водному розчині крохмалю, 1 мл якого містив 0,4 мкг селену, 2,5 мкг цинку і 0,5 мг ліпідів), так і селенхромліпідного (розчинений в 1% водному розчині крохмалю,1 мл якого містив 1,85 мкг селену, 1,1 мкг хрому і 0,5 мг ліпідів) комплексів впродовж 14 діб пригнічувалися прооксидантні процеси та активізувався антиоксидантний статус організму тварин [3, 4], насамперед, за рахунок, зростання вмісту відновленого глутатіону за зниження функціональної ролі каталази, що виявлено у експериментальних тварин як в печінці, так і в сироватці крові тварин (табл.).

*Таблиця*

Антиоксидантні властивості селенметалліпідних комплексів із *Chlorella vulgaris*

| Показники | Умови досліду | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Дія $Se(IV)+Zn^{2+}$ | | | Дія $Se(IV)+Cr^{3+}$ | | |
| | контроль | ліпідний комплекс | селенцинк-ліпідний комплекс | контроль | ліпідний комплекс | селенхром-ліпідний комплекс |
| Сироватка крові | | | | | | |
| ТБК-активні продукти, мкмоль/дм$^3$ | 18,99±1,63 | 19,28±1,12 | 14,57±0,32* | 56,42±0,97 | 43,19±0,44* | 30,07±0,10* |
| Каталаза, мкат/дм$^3$ | 0,15±0,01 | 0,18±0,01 | 0,22±0,01* | 2,23±0,41 | 3,41±0,12* | 5,81±0,16* |
| Відновлений глутатіон, ммоль/дм$^3$ | 0,27±0,01 | 0,44±0,03* | 0,71±0,03* | 0,66±0,21 | 0,91±0,23* | 1,68±0,36* |
| Печінка | | | | | | |
| ТБК-активні продукти, мкмоль/кг | 84,40±5,83 | 92,95±5,43 | 91,88±8,22 | 59,85±0,60 | 52,99±1,21* | 50,21±0,13* |
| Каталаза, мкат/кг | 0,25±0,002 | 0,27±0,002* | 0,28±0,001* | 1,37±0,30 | 1,00±0,72 | 0,85±0,23 |
| Відновлений глутатіон, ммоль/кг | 0,63±0,06 | 0,92±0,02* | 1,06±0,02* | 1,62±2,33 | 1,80±4,91* | 3,33±8,68* |

*Примітка*: * – $p<0,05$ за t-критерієм Стьюдента щодо контролю.

Проведені дослідження дозволили відзначити позитивний вплив селенцинкліпідного та селенхромліпідного комплексів з хлорели на метаболічні процеси у здоровому організмі та відкрили перспективу їх використання як антиоксидантів та антигіпоксантів.

**Висновки.** Розглянуто принципи ефективного отримання в культурі мікроводоростей біологічно активних речовин, на основі яких розроблено технології регулювання накопичення хлорелою ліпідів – селенцинкліпідної і селенхромліпідної субстанцій, які підтвердили позитивний вплив на метаболічні процеси у здоровому організмі та відкрили перспективу їх використання як антиоксидантів та антигіпоксантів.

**Література:**


1. Брускова О. Б. Биологическая функция селена в организме животных / О. Б. Брускова // Сборник научных трудов «Современные проблемы биотехнологии и биологии продуктивных животных». – Боровск, 2000. – Т. 39. – С. 376-386.
2. Винярская Г. Накопление селена в липидах *Chlorella vulgaris* Beijer. (CHLOROPHYTA) *in vitro* / Г. Винярская, О. Боднар, А. Станиславчук [и др.] // Actual problems in modern phycology. Y International Conference "Actual problems in modern phycology", 3-5 nov., 2014, Chisinau, Moldova / ed by Salaru Vasile [et al.]. – Chişineu: CEP USM, 2014. – P. 153–158.
3. Вінярська Г. Б. Вплив селен-цинк-ліпідної субстанції із *Chlorella vulgaris* Biej. на оксидативний та енергетичний статус щурів / Г. Б. Вінярська, П. Г. Лихацький, О. І. Боднар, Л. С. Фіра, В.В. Грубінко // Медична та клінічна хімія. – 2015. – Т. 17. № 4. – С. 10-17.
4. Вінярська Г. Б. Накопичення селену та його вплив на метаболізм у *Chlorella vulgaris* Beij. в культурі за дії селеніту натрію та йонів металів / Г. Б. Вінярська : автореф. дисертації на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук. Спеціальність 03.00.04 – біохімія. – Тернопіль, 2016. – 21 с.
5. Минюк Г. С. Влияние селена на жизнедеятельность морских и пресноводных микроводорослей / Г. С. Минюк, И. В. Дробецкая // Экология моря. – 2000. – Вып. 54. – С. 26-37.
6. Chovančíková M. Effects of high-fat and Chlorella vulgaris feeding on changes in lipid metabolism in mice / M. Chovančíková, V. Šimek // Biologia (Bratislava). – 2001. – Vol. 56, No 6. – P. 663-666.
7. Kim Y. Effect of *Chlorella vulgaris* intake on cadmium detoxification in rats fed cadmium / Y. Kim, S. Kwon, M. Kim [et. al.] // Nutr. Res. Pract. – 2009. – Vol. 3, № 2. – P. 89-94.
8. Lee H. S. Effect of Chlorella vulgaris on lipid metabolism in Wistar rats fed high fat diet / H. S. Lee, H. J. Park, M. K. Kim // Nutr Res Pract. – 2008. – Vol. 2, № 4. – P. 204-210.
9. Selenium // Alternative Medicine Review. – 2003. – Vol. 8, № 1. – P. 63-71.

**Lystvan K.[1], Listvan V.[2], Shcherbak N.[1]**
[1] Institute of Cell Biology and Genetic Engineering NAS of Ukraine, Kiev, Ukraine
[2] Zhytomyr Ivan Franko State University, Zhytomyr, Ukraine

# HEAVY METALS UPTAKE BY HAIRY ROOTS CULTURES OF *CONVOLVULUS TRICOLOR* (CONVOLVULACEAE)

*Several clones of hairy roots of Convolvulus tricolor (Convolvulaceae) were obtained and their ability to phytoextraction of some heavy metals ions from the nutrient medium was assessed. The study was conducted by cultivation of hairy roots biomass in the nutrient media with addition of 20 mg/l of $Cr^{6+}$, $Ni^{2+}$and $Pb^{2+}$ ions. The heavy metals concentration in the dried root tissues was determined by atomic flame spectroscopy. It was found that transgenic roots can absorb these ions in significant quantities - the concentration of heavy metals in the root mass was (mkg/g dry weight): for Chromium - 3942 ± 728; Nickel - 2062 ± 512, Lead - 2983 ± 125. Our resulsts demonstrate that C.tricolor can be considered as a perspective candidate for the futher phytoremediation studies.*

## Introduction

The problem of water pollution by various organic and inorganic pollutants as a result of human activities remains very important. One of the ways of water purification is phytoremediation (technologies that use the plants for cleaning up) including one of the phytoremediation processes - rhizoextraction (uptake and concentration of toxic substances from the environment into the root biomass). In addition, roots may excrete some substances which are capable to interact by chemical or enzymatic way with some organic pollutants neutralizing them.

Nowdays, the phytoremediation ability of different plants species is investigating rather active. The attempts are made to create transgenic plants and *in vitro* cultures with improved phytoremediation qualities. An important branch of these investigations is the creation and studying of root cultures, including transgenic (so-called hairy) roots, the advantages of which are a fast hormone-independent growth and an active branching, which leads to a significant increasing of root mass and surface [1].

*Convolvulus* (Convolvulaceae) is a genus of about 200 species of flowering plants. Some of the representatives are used as ornamental plants, and *C. tricolor* (dwarf morning-glory) is among them. The good capability of shoots to accumulate of heavy metals (cadmium, chromium and copper) has been stated for at least one of the species of the genus, *C.arvensis* [2]. It draws attention to the genus from the point of view of their phytoaccumulation potential.

## The aim

The aim of this study is the creation of the hairy roots of *C.tricolor* and assessing of their heavy metals phytoextraction ability.

## Metodology

Cotyledonary leaves and internodes of aseptic seedlings of *C.tricolor* were used as explants in the transformation experiments. *Agrobacterium rhizogenes* strain A4 was used for genetic transformation. The explants were cut into fragments of the size of about 1 cm, incubated in the bacterial suspension for 2-2,5 hours, transferred on to the hormone-free agar-solidified MS [3] medium and cultivated at $22^0$C and 16-hour photoperiod for 24 hours. After that the cultured explants were washed in sterile distilled water, dried on filter paper and cultured on the agar-solidified MS medium containing 400 mg/l cefotaxime for *Agrobacterium* elimination until the roots appeared with subculturing every 2-3 weeks. The induced roots were grown on MS medium containing cefotaxime, concentration of which was gradually decreased to zero in the course of cultivation.

To confirm the transgenic nature of the obtained hairy roots culture PCR of genomic DNA with primers specific to *rolB* gene was used.

To study the heavy metals extraction capacity of the obtained roots, they were cultured within 8 days in the liquid nutrient media MS, supplemented with 30 g/l sucrose, with the addition of corresponding heavy metals salts (Lead(II) and Nickel (II) nitrates and Potassium dichromate). The final concentration of the metal ions in the media was 20 mg/l. Then the roots were dried and heavy metals content in them was measured.

**Results**

Several clones of transgenic roots were obtained and their transgenic nature was confirmed by PCR. It was stated that cotyledonary leaves explants are the much more suitable for genetic transformation than hypocotyl ones: the transgenic roots formed at the 25,7% of cotyledonary leaves explants and at the 8.4% of hypocotyl ones only.

The obtained root clones are successfully maintained in the *in vitro* conditions for a long time (to date - over a year), they actively grow on nutrient medium MS with a half macronutrient salt concentration, supplemented with 30 g/l sucrose.

The study the growth characteristics of root cultures in the presence of heavy metals ions showed that in the presence of Nickel and Chromium ions the roots stop their growing, while the presence of Lead slows down the growth of roots only. During the 8 days of cultivation the wet weight of control roots was increased by 3,3-4 times, while the weight of roots cultivated in the media containing Lead ions - by 1,4-1,7 times only.

The investigation of heavy metals phytoextraction abilities demonstrated that studied transgenic roots can absorb heavy metals ions in significant quantities - the concentration of heavy metals in the root biomass was (mkg/g dry weight): for Chromium - 3942 ± 728; Nickel - 2062 ± 512, Lead - 2983 ± 125. Although these values don't reach the values of heavy metals absorption of the some known plant species-hyperaccumulators, but they are high enough to stimulate further investigations of phytoremediation abilities of *in vitro* cultures of *C.tricolor* and other species of *Convolvulus* genus.

**Conclusions**

Our results demonstrate that *C.tricolor* can be considered as a perspective candidate for the futher phytoremediation studies.

**References:**

1. Agostini E., Talano MA., González PS., Oller AL., Medina MI. Application of hairy roots for phytoremediation: what makes them an interesting tool for this purpose? // Appl Microbiol Biotechnol, V.97(3), 2013, P. 1017-30.
2. Gardea-Torresdey J.L., Peralta-Videa J.R., Montes M., Rosa G. de la, Corral-Diaz B. Bioaccumulation of cadmium, chromium and copper by *Convolvulus arvensis* L.: impact on plant growth and uptake of nutritional elements // Bioresource Technology, V.92(3), 2004, P. 229-235.
3. Murashige T, Skoog F A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol Plant, V.15, 1962, P.473 – 97.

**Мельник І. П., Гнидюк В.С.**
Асоціація "Біоконверсія", Івано-Франківськ, Україна

## ВПЛИВ ОРГАНІЧНИХ ДОБРИВ НОВОГО ПОКОЛІННЯ "БІОПРОФЕРМ" НА БІОЛОГІЧНУ ВЛАСТИВІСТЬ ҐРУНТІВ

*The results of research on the Influence of organic fertilizer "Bioproferm" the biological properties of the soil.*

Одним із показників родючості ґрунту є його біологічна активність, яка визначається інтенсивністю біохімічної діяльності ґрунтових мікроорганізмів. З нею пов'язані процеси синтезу та розкладу гумусу, мінералізація внесених у ґрунт органічних добрив, поживно-кореневих решток, переведення важкорозчинних для рослин елементів живлення в доступну форму [1].

В існуючих системах землеробства біологічна суть виникнення родючості ґрунтів, на жаль, практично не береться до уваги. Між тим, роботи П. Костичева [4] свідчать, що утворення родючого шару ґрунту є процесом комплексним - одночасно геологічним і біологічним. П. Костичев у своїх дослідженнях також показав, яке значення мають ґрунтові мікроорганізми у формуванні біологічно активних ґрунтів, довівши, що вони не тільки розкладають рослинні рештки, а й постійно синтезують складні органічні сполуки, в тому числі й біологічно активні речовини, які сприяють розвитку рослин [4].

Про надзвичайно важливе значення ґрунтових мікроорганізмів у формуванні родючості ґрунтів та їхній вплив на розвиток рослин свідчать праці багатьох поколінь мікробіологів, але тільки в останні роки з'явились фундаментальні розробки, які дають змогу окреслити принципово нові підходи до оптимізації мікробно-рослинної взаємодії. Мова йде, насамперед, про відкриття явища інтеграції генетичних систем мікроорганізмів і рослин у процесі їх взаємодії. Отже, рослини довірили низку своїх функцій мікроорганізмам, а їхнє здійснення базується на інтеграції генетичних факторів партнерів. Наслідком цього є те, що адаптаційні властивості рослинно-бактеріальних систем контролюються генотипом надорганізмових систем. .Мікроорганізми є необхідною ланкою в кругообігу всіх біогенних елементів, беруть безпосередню участь у процесах ґрунтоутворення і підтримці родючості ґрунтів. Тому усі заходи сучасного землеробства повинні здійснюватися з врахуванням реакції або адаптивних можливостей мікроорганізмів ґрунту до антропогенного навантаження, з метою повнішого використання біологічного потенціалу мікроорганізмів. Нині уявлення про симбіози бактерій та рослин є частиною загальних уявлень про еволюційну єдність генетичного апарату про- і еукаріот [1,2,3].

Мікробіоценоз ґрунту - це складна і різноманітна система і в міру її окультурення збільшується чисельність мікроорганізмів і їх біологічна різноманітність. Виражається вона не тільки у видовій різноманітності, але і в різних екологічних типах мікроорганізмів.

На інтенсивність і направленість процесів гумусоутворення у значній мірі впливають антропогенні фактори: форми і дози мінеральних добрив, органічних добрив, сидератів; ступінь насиченості ґрунтів катіонами кальцію; обробіток ґрунту і режим зволоження.

Враховуючи критичний стан з виробництвом і внесенням органічних добрив (8,6 т/га в 1990 році біля 1 т/га в 2015 році) нами враховуючи досвід США, Західної Європи та інших країн на протязі 2008 – 2012 років розроблено, запатентовано і впроваджено у виробництво в Івано-Франківській, Львівській, Волинській та деяких інших областях технологію отримання нового виду органічних добрив "Біопроферм" методом пришвидшеної ферментації (7-12 днів) органічних відходів тваринництва, рослинництва, відходів переробної промисловості, осаду стічних вод та ін.

Одна тонна органічного добрива "Біопроферм" рівнозначна 8 – 10 т високоякісного гною чи компостів із значними перевагами по вмісту легкозасвоюваних поживних речовин та корисних мікроорганізмів.

Тому нами проведено вивчення впливу органічних добрив «Біопроферм», отриманих методом біологічної ферментації органічних відходів, на мікробні популяції ґрунту. Нами вивчено зміни кількісного і якісного складу мікроорганізмів у важко суглинистих дернових, глибоко опідзолених ґрунтів при внесенні різних доз органічних добрив «Біопроферм».

Результати наших досліджень показали, що ґрунт після внесення органічних добрив «Біопроферм» характеризується високою чисельністю мікроорганізмів. Найбільшою заселеністю мікроорганізмами відзначався шар ґрунту 0-30 см. У контрольному варіанті (без внесення органічних добрив «Біопроферм») вміст мікроорганізмів в 1 г ґрунту верхнього 30-сантиметрового горизонту коливався, за роками досліджень, від 28,9 до 53,0 млн. шт. Досліджуваний ґрунт характеризується невисоким рівнем мінералізації органічної речовини, про що свідчить співвідношення чисельності мікроорганізмів, виділених на м'ясо-пептинному агарі (МПА) до їх кількості на пептиновому агарі (ПА). Широке співвідношення свідчить про активність розкладу органічної речовини, оскільки мікроорганізми, що використовують органічні сполуки азоту, переважають над мікроорганізмами, що використовують в процесі живлення мінеральний азот.

У всіх ґрунтах більше половини ґрунтового мікронаселення представлено бактеріями. Життєдіяльність у ґрунті бацил, грибів і актиноміцетів пов'язана з трансформацією органічних речовин. З одного боку, вони здатні розщеплювати різні компоненти гумусових речовин, з іншого - виділяти продукти, близькі до гумусу.

Результати наших досліджень виявили, що переважаючими в мікробному угрупованні у дернових, глибоко опідзолених, глиноватих, важкосуглинових грунтах є бактерії, питома вага яких досягала 93-95%. Друге місце належить актиноміцетам, відносний вміст яких коливався у межах 3,0 - 5,2%. Гриби виявились найменш малочисельною групою, їх питома вага коливалася від 1,6 до 1,9% .

Внесення у ґрунт органічних, добрив «Біопроферм» привело не тільки до збільшення кількості мікроорганізмів, але і змінило їх якісний склад. Зі збільшенням норми внесення органічного добрива «Біопроферм», питома вага грибів знижується до 0,5-0,6% , а частка актиноміцетів, навпаки, зростає на 0,4 %.

Найкращим варіантом виявилось внесення органічного добрива «Біопроферм» по 10 т/га, при цьому вміст актиноміцетів порівняно із контролем збільшився на 0,6%, а вміст бактерій склав 93,7% від загальної кількості мікроорганізмів.

**Висновки.** Внесення у ґрунт органічних добрив «Біопроферм», виготовлених методом прискореної аеробної біологічної ферментації, сприяло підвищенню в ґрунті рівня біологічної активності, що сприяло формуванню оптимальних умов трансформації органічної речовини і продуктивності агробіоценозу.

**Література:**

1. Войнова-Райкова Ж. В. Микроорганизмьі и плодородие / *Ж. В. Войнова-Райкова.* - М.: Агропромиздат, 1986. - 120 с.
2. Іутинська Г.О. Ґрунтова біологія *ІГ.О. Іутинська.-К.:* Арістем, 2006.-282 с.
3. Ковалев Н.Г. Микробиологические и агротехнические свойства нового вида органических удобрений / *Н.Г. Ковалев, Г.Ю. Рабшовт II* Доклади РАСХН. - 1997. - № 5. - С. 19 - 21.
4. Костьічев П.А. Образование и свойства перегноя / *П.А. Костьічев II* Трудьі СПб. общества естествоиспьітателей (отд. ботаники). - СПб., 1989.- Т. 20. - С. 34 - 75.

**Мельников Е.В., Корытько Л.А.**
ГНУ «Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси», Минск, Беларусь

## ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ ФУНКЦИЯ АМИНОКИСЛОТ В ЗАЩИТЕ РЖИ *(SECALE CEREALE* L.*)* ОТ РЖАВЧИННОЙ ИНФЕКЦИИ *(PUCCINIA DISPERSA* ERIKS ET. HENN.*)*

*Influence of preseeding processing of rye (Secale cereale L.) seeds by free amino acids was investigated. Positive influence amino acids on rye resistant to the rust (Puccinia dispersa Eriks et. Henn.) infection was revealed, proceeding from a visual and biochemical researches. By results of complex researches it is established, that the proline in concentration $10^{-4}$–$10^{-6}$M is most effective for improvement of rye plant resistant to the rust.*

Ржавчинная инфекция существенно влияет на обмен веществ пораженного растения, что в итоге приводит к потерям урожая и качества зерна. В связи с этим становится актуальным вопрос о разработке мер борьбы с этой группой фитопатогенных грибов. Исследования по защите растений от инфекционных болезней развиваются, в основном, по двум направлениям: создание методов уничтожения вредных организмов с помощью пестицидов и селекционное выведение болезнеустойчивых сортов. К сожалению, оба этих направления имеют существенные недостатки. Обработка растений химическими соединениями наносит вред окружающей среде и здоровью человека, а гены устойчивости вновь выведенных сортов преодолеваются патогенами вскоре после их введения в растения. В связи с этим возникает необходимость разработки новых эффективных мер борьбы с фитопатогенными микроорганизмами, лишенных недостатков пестицидного и селекционно-генетического подхода [1]. Одной из таких мер является поиск биологически-активных веществ, механизм действия которых связан со стимуляцией иммунной системы растений. Применение таких соединений в очень небольших дозах один раз в сезон, например, в виде предпосевной обработки семян [2], должно способствовать повышению устойчивости растений к ржавчине. Среди потенциально полезных веществ природного происхождения можно выделить группу азотистых соединений, в частности свободных аминокислот. Они присутствуют в каждом виде растений и участвуют во многих процессах жизнедеятельности растительного организма. Свободным аминокислотам отводится особая роль в пато- и иммуногенезе растительного организма. Важность этих соединений в протекании как защитных, так и патологичесих реакций объясняется их полифункциональностью: они обеспечивают детоксикацию свободного аммиака, поставку углеводородных скелетов для энергетического метаболизма, синтеза белков и фитогормонов и др.

Выделяют группу «стрессовых» аминокислот, которые принимают участие в общем адаптивном ответе растительного организма на стрессоры, в том числе и на внедрение патогена. К ним относят аланин, фенилаланин, пролин, являющиеся нейтрализаторами активных форм кислорода, токсичных как для растительных тканей, так и для ржавчинного гриба [3]. Нами были предприняты попытки привлечь эту жизненно важную группу соединений в качестве индукторов защитных реакций растений к болезням.

В связи с этим целью данной работы явился подбор наиболее эффективных в борьбе с грибной инфекцией аминокислот и изучение их влияния на инфицированные патогеном растения. Планировалось провести визуальную оценку степени поражения ржи ржавчинным грибом, а также изучить ряд биохимических показателей, характеризующих устойчивость и восприимчивость растений к патогену.

В качестве объектов исследования использовались восприимчивая рожь сорта Игуменская и возбудитель бурой листовой ржавчины *Puccinia dispersa* Eriks *et.* Henn.

Предпосевная обработка (путем замачивания семян) проводилась растворами свободных аминокислот (пролин, аланин, фенилаланин). Данные соединения природного происхождения применяли в концентрациях от $10^{-6}$М (соответствует внутриклеточному содержанию) до $10^{-4}$М. Оценку инфицирования растений проводили по шкале Т.Д. Страхова, состоящей из двух частей: шкалы иммунности и шкалы для учета степени поражаемости бурой листовой ржавчиной [4].

Визуальная оценка инфицированных растений показала, что предпосевная обработка семян ржи растворами свободных аминокислот снижала степень поражения листьев в большей или меньшей степени. Так, при предварительной обработке семян пролином степень поражения составляла 5-15%, аланином – 10-15%, фенилаланином 10-20% (при инфицировании контроля 25%).

Проведение биохимических исследований также подтвердило иммунизирующее действие предпосевной обработки семян растворами аминокислот. Так, на начальных этапах патогенеза в опытных образцах уровень содержания продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) был близким к необработанному инфицированному контролю или несколько ниже его. При дальнейшем развитии болезни наблюдалось уменьшение содержания продуктов ПОЛ при обработке фенилаланином – на 10%, пролином – на 10-20% по сравнению с инфицированным контролем. Варианты обработок аланином были близки к контрольному уровню. Понижение уровня перекисного окисления липидов свидетельствует о большей стабильности клеточных мембран в данных вариантах, а, следовательно, более высокой резистентности растений. Кроме того, отмечалось снижение уровня выхода водорастворимых веществ из тканей растений на 30-50% (в зависимости от варианта обработки и концентрации) по сравнению с необработанным контролем, что также подтверждает положительное влияние на устойчивость мембран предобработки семян растворами аминокислот. При инфицировании ржи проницаемость мембран обработанных растений по-прежнему оставалась ниже, чем у необработанного инфицированного контроля: на 30-70% на инкубационной стадии развития болезни и на 20-60% на стадии появления этиолированных пятен.

Предобработка семян растворами аминокислот также оказывала положительное влияние на работу фотосинтетического аппарата, что подтверждалось повышением содержания хлорофиллов (*а+в*) и каротиноидов в листьях ржи на 10-15% (обработка семян фенилаланином), 15-20% (аланином) и 20-28% (пролином) в сравнении с инфицированным контролем в первые дни патогенеза. При дальнейшем развитии инфекции содержание фотосинтетических пигментов оставалось увеличенным, превышая контрольный уровень на 20-30% практически во всех опытных образцах.

Таким образом, все выбранные нами аминокислоты в той или иной мере повышали устойчивость растений ржи к ржавчинной инфекции, при этом наибольшие иммуностимулирующие свойства проявлял пролин во всех исследуемых концентрациях.

*Работа выполнена при поддержке БРФФИ.*

**Литература**

1. Тютерев С.Л. Научные основы индуцированной болезнеустойчивости. – СПб: ООО «Инновационный центр защиты растений» ВИЗР, 2002. – 328 с.
2. Ламан Н.А., Алексейчук Ж.Н., Калацкая Ж.Н. Современная технология предпосевной обработки семян и ее биологические основы. // Наука и инновации, 2006, № 9, 37-41.
3. Кабашникова Л. Ф. Фотосинтетический аппарат и стресс у растений. Мн.: Беларусская навука, 2014. – 267 с.
4. Методы повышения устойчивости сельскохозяйственных культур к болезням. Мн.: Наука и техника, 1982. С. 34-35.

**Melnykova N.[1], Ferus P.[2], Bošiaková D.[2, 3], Kots S.[1]**
[1]Institute of Plant Physiology and Genetics of NASU, Kyiv, Ukraine
[2]Institute of Forest Ecology SAS, Vieska nad Žitavou, Slovakia
[3]University of Constantine the Philosopher, Nitra, Slovakia

## MICROBIAL INOCULATION AS A WAY TO AFFECT BLACK LOCUST SEEDLING GROWTH AND DEVELOPMENT

*Завдяки деяким властивостям, зокрема продукуванню біологічно активних речовин, ґрунтові мікроорганізми здатні впливати на ріст рослин. Бактеріальні ізоляти, виділені з бульбочок робінії звичайної (Robinia pseudoacacia L.), здатні покращувати проростання насіння та формування проростків, вказуючи на те, що мікробна інокуляція насіння може бути використана для регулювання раннього росту і розвитку цього бобового дерева багатоцільового призначення.*

Black locust is a leguminous tree native to North America that forms a nitrogen-fixing symbiosis with nodule bacteria. Black locust has a number of useful traits, for instance, this leguminous plant can be highly valued in land reclamation, for biofuel production, forage etc. [1].

Soil microorganisms were shown to play a very important role in plant growth and development due to their ability to produce biological active substances [2] and to provide plants with essential mineral nutrients [3]. A recent study has shown that some rhizobacteria has a positive effect on seedling length of black locust [4]. Nodule bacteria or rhizobia like other soil microorganisms also have a set of traits of plant growth-promoting activities [5]. So, they can be used as biofertilizers for improving plant growth and crop yield. The aim of this study was to isolate bacteria from black locust root nodules and estimate their plant growth promoting activity, namely their effect on black locust seed germination and seedling growth.

Bacteria were isolated from the root nodules of black locust (*Robinia pseudoacacia* L.) growing in different locations of Europe (Kyiv, Ukraine and Arboretum Mlynany, Slovakia). Seven bacterial isolates were assayed for their ability to improve black locust seed germination and seedling growth. Germination percentage, seedling length and seedling weight were measured during different period of seed germination and seedling formation.

Tested bacteria reached a stationary growth phase after 72 hours growth in broth medium. Similar growth tendency was observed for all bacterial isolates. Some microorganisms were shown to affect significantly on black locust seed germination and seedling growth. Two bacterial isolates increased black locust seed germination percentage and seedling length. One bacterial isolate found in the root nodules has a negative impact on black locust seedling development. There was no noticeable relation between the effect on seedling growth and original soil/ climatic conditions of applied bacteria.

The results from this study suggest that black locust seed inoculation with root nodule bacteria can be an important way to regulate black locust growth at the earliest stages of its life cycle.

**References:**

1. Barrett R.P., Mebrahtu T., Hanover J.W. Black locust: A multi-purpose tree species for temperate climates. In: J. Janick and J.E. Simon (eds.), Advances in new crops. Timber Press, Portland, OR. 1990. 278-283.
2. Sokolova M.G., Akimova G.P., Vaishlya O.B. Effect of phytohormones synthesized by rhizosphere bacteria on plants. Appl. Biochem. Microbiol. 2011. 47: 274-278.
3. Franche C., Lindstrom K., Elmerich C. Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants. Plant Soil. 2009. 321: 35-59.
4. Hajnal-Jafari T., Jarak M., Duric S., Stamenov D., Orlovic S. The effect of microbial inocula on the growth of black locust, siberian elm and silver maple seedlings. Matica Srpska J. Nat. Sci., Novi Sad. 2014. 127: 15-22.
5. Gopalakrishnan S., Sathya A., Vijayabharathi R., Varshney R.K., Laxmipathi Gowda C.L., Krishnamurthy L. Plant growth promoting rhizobia: challenges and opportunities. 3 Biotech. 2015. 5: 355-377.

**Molodchenkova O.O., Adamovskaya V.G., Lykhota O.B., Kartuzova T.V.**
Plant Breeding&Genetics Institute-National Center of Seed and Cultivar Investigation, Odessa, Ukraine

## ROLE OF BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS IN THE PLANT RESISTANCE AT THE FUNGAL INFECTIONS AND ABIOTIC FACTORS

*The role of salicylic and jasmonic acids, lectins and inhibitors of phenylalanine ammonia-lyase in the formation of protective reactions of cereals against fungal pathogens and abiotic stressors was studied. The received results allow to suppose the participation of these biologically active compounds in adjusting of different ways of metabolism, in the propitious direction for the growth and development of plants and the activation of the biochemical protective systems. Further researches may allow us to use these biologically active compounds for development of the new methods of cereals protection from the infection of the fungal pathogens and influence of abiotic stressors, based on the activation of the natural plant defense mechanisms.*

One of the perspective direction of modern phytoimmunology is the induction of plant resistance to unfavourable environmental biotic and abiotic factors by biologically active compounds. The process of plant resistance formation to biotic and abiotic stress factors is connected with transformation of a protein and enzyme complex, oxidizing and antioxidizing processes and phenolic and carbohydrate metabolism. It is known that trypsin inhibitors, lectins, phenylalanineammonia-lyase, dehydrins, sucrose phosphate synthetase take part in the plant protective mechanisms to stresses of different nature. A certain role in regulation of plant responses to different nature stress factors belongs to salicylic (SA) and jasmonic (JA) acids. SA and JA may be triggers that activate plant protective mechanisms during the diseases and the action of abiotic stresses.

The goal of research was to study the role of salicylic and jasmonic acids, lectins and inhibitors of phenylalanineammonia-lyase in the formation of protective reactions of cereals against fungal pathogens and abiotic stressors.

The object of the study was varieties, lines, hybrids of winter and spring wheat (*Triticum aestivum L.*), spring barley (*Hordeum vulgare L.),* corn (*Zea mays L.*) significantly different on the level of resistance to fungal pathogens (*Fusarium graminearum, Fusarium culmorum*, *Alternaria alternata, Fusarium moniliforme*) and drougt-heat tolerance.

The six-day seedlings of winter wheat (*Triticum aestivum L.),* spring barley (*Hordeum vulgare L.*), corn (*Zea mays L.)* genotypes differentiating by their resistance to fungal pathogens are used in the researches. 0,007-0,1 mM salicylic acid and 1μM jasmonic acid are used in the experiments. 2 mM α-aminohydroxyacetic acid and D-phenylalanine are used in the capacity of specific inhibitors of phenylalanineammonia-lyase. The suspensions of pathogens (*Fusarium graminearum, Fusarium culmorum, Alternaria alternata, Fusarium moniliforme)* in the concentration of 10 million conidia/ml is taken in the capacity of infection source. Lectins isolated from the wheat and soybean seeds by methods (Luchik, 1981; Sytnikov et al., 2006). Lectin is used in the concentration of 50 and 100 μg/ml. Lectin activity determinated for ability to agglutinate the trypsin red corpuscles of white rats at the room temperature (Luchik,1981) The activity of trypsin inhibitor determinated using synthetic substrate N-benzoyl-arginine-4-nitroanilide (Levitsky, 1979). The activity of the phenylalanineammonia-lyase determinated by modified method (Zucker,1965). Lipoxygenase activity was determined by the procedure (Dubcov, Popov, 1970). Activity of sucrose phosphate synthetase was determined by procedure (Castrillo, 1992). Dehydrins isolated from the plants and identified by procedure (Stupnikova et al., 1998).

It was established that the growth of the seeds in the environment, containing the salicylic or jasmonic acids, lectin positively influenced on the growth processes of noninfected and infected plants. The character of the influence of these compounds depended on its concentration.

It was shown that restructuring of methabolic processes connected with the accumulation and redistribution of protective proteins (proteinase inhibitors, lectins, dehydrins), change of enzymes activity (lipoxygenase, phenylalanineammonia-lyase, sucrose phosphate synthase), directed generation of mediators of signaling systems in the plant tissues form the basis of biochemical mechanisms of plant resistance of cereals to infection of fungal pathogens and the influence of abiotic stress factors. It was elucidated that the changes of activity of the studied protective proteins and enzymes in cereals at the action of factors of different nature are controlled by different mechanisms. These changes depend on the expression of defense genes and intensity of processes of protein biosynthesis. One of display of protective action of jasmonic, salicylic and lectin is their skill to induce the changes of protective proteins activity (activity of trypsin inhibitor, lectins, lipoxygenase, phenylalanineammonia-lyase) in the plant tissues of cereals. Lines of evidence about the change of protective proteins activity under the action of salicylic and jasmonic acids, lectin show the involvement of these compounds in the chain of signaling pathways that lead to the expression of protective genes and the formation of plant resistance of cereals to fungal pathogens and abiotic stress factors.

Outline differences of cereals plant response to fusariose infection and influence of specific inhibitors (α-aminohydroxyacetic acid and D-phenylalanine) are shown. They consist in the different degree of phenylalanineammonia-lyase activity change depending on varieties or lines resistance to the fungal pathogens, factor of influence and research culture.

Difficult interactions, directing on the stimulation of the growth processes and saving or increasing of plant resistance towards the presence pathogen, were the result of the joint action of the research biologically active compounds with the fungal infection.

The received results allow to suppose the participation of research biologically active compounds in adjusting of different ways of metabolism, in the propitious direction for the growth and development of plants and the activation of the biochemical protective systems. Further researches may allow us to use these biologically active compounds for development of the new methods of cereals protection from the infection of the fungal pathogens and influence of abiotic stressors, based on the activation of the natural plant defense mechanisms.

**References**

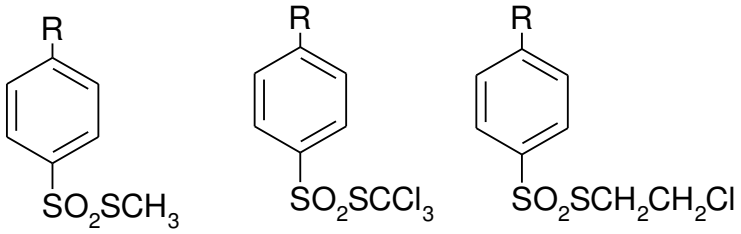
1. Castrillo M. Sucrose metabolism in bean plants under water deficit // J.Exp.Bot. – 1992. –
2. V. 43, N 257. – P. 1557– 1561.
3. Dubtsov G.G., Popov M.P. Method for determining wheat lipoxygenase // Applied Biochemistry and Microbiology. – 1979. – V. 6, № 4. – P. 471- 474.
4. Levitsky A.P. Methods of trypsin inhibitors determination / Proceedings “Biochemical methods of breeding material research ”. – Odessa:VSGI, 1979. –V. 15.– P. 68-72.
5. Lucik M.F., Panacyuk E.N., Lucik A.D. Lectins. – Lviv: Vusshaya shkola, 1981. – 150 p.
6. Sitnikov D.M., Kocy S.Ya., Malinenko S.M. Lectin activity of different organs of soybeen under the conditions of effective and ineffective symbiosis // Physiology and biochemistry of cultivated plants. – 2006. – V. 38, № 1. – P.53-60.
7. Stupnikova I.V., Borovsky G.B., Boynikov V.K. Accumulation of heat resistant proteins in the seedlings of winter wheat at the hypothermia // Plant Physiology (Russia). – 1998. – V. 45, № 6. – P. 859-864.
8. Zucker M. Induction of phenylalalnineammonia-lyase by light and its relation to clorogenic acid in Potato Tuber Tissuo// Plant Physiology. – 1965. – V. 40, № 5. –P. 779-784.

**Монька Н.Я.[1], Наконечна А.В.[1], Хоміцька Г.М.[1], Василюк С.В.[1], Карпенко І.В.[2], Кушнір Н. В.[1], Новіков В. П.[1], Лубенець В. І.[1].**
[1] Національний університет «Львівська політехніка», Львів, Україна
[2] Відділення фізико-хімії горючих копалин Інституту фізико-органічної хімії і вуглехімії ім. Л.М. Литвиненка НАН України, Львів, Україна

## АНТИБАКТЕРІАЛЬНА ДІЯ АЛКІЛОВИХ І АЛКІЛЗАМІЩЕНИХ ЕСТЕРІВ БЕНЗЕНТІОСУЛЬФОКИСЛОТ

*New alkyl and alkyl-substituted esters of various benzenthiosulfoacids, which are analogues of natural phytoncides, have been synthesized. Their prospects for the development of new plant protection products against bacterial and fungal diseases have been established.*

У зв´язку з високими вимогами до екологічної безпеки засобів агроменеджменту у світі ведеться інтенсивний пошук нових препаратів для рослинництва як серед сполук природного походження, так і їх синтетичних структурних аналогів, які у малих концентраціях при низькій токсичності зможуть забезпечувати захист рослин від фітопатогенних мікроорганізмів. В цьому напрямку перспективними є S-естери тіосульфокислот - структурні аналоги фітонцидів часнику (*Allium sativum* L.) [1], цибулі (*Allium cepa* L.) [2], різних видів капусти, особливо цвітної [3]. Відомо, що синтетичні естери тіосульфокислот проявляють широкий спектр біологічної дії, а їх протимікробна активність часто перевищує ефективність природних аналогів. Серед них є сполуки, запропоновані як лікарські засоби, консерванти фруктів та овочів, ефективні засоби захисту рослин, рістрегулятори, біоцидні добавки, інсектициди, радіопротектори [4]. З метою пошуку та одержання нових антибактеріальних субстанцій проти фітопатогенних бактерій та встановлення залежності «структура – активність» нами розроблено методи синтезу алкілових і алкілзаміщених естерів різних бензентіосульфокислот, наступних структур:




1 а-г 2 а-г 3 г

R= Cl (а), $NO_2$ (б), $CH_3CONH$ (в), $NH_2$(г)

Антибактеріальна дія алкілових і алкілзаміщених естерів бензентіосульфокислот (**1а-г, 2а-в, 3г**) була досліджена щодо низки фітопатогенних бактерій: *Xanthomonas phaseoli, Xanthomonas malvacearum, Xanthomonas translucens, Corynebacterium michiganense, Corynebacterium sepedonicum, Pseudomonas syringae, Pseudomonas atrofaciens, Pseudomonas. lachrymans, Pseudomonas phaseolicola , Pseudomonas cerasi, Pseudomonas sp., Erwinia carotovora, Erwinia aroideae, Erwinia horticola, Erwinia phytophthora, Agrobacterium tumefaciens.* Нами встановлено, що усі синтезовані тіосульфоестери проявляють антибактеріальну дію на вказані фітопатогенні бактерії. Показано, що усі синтезовані сполуки є антибактеріальними субстанціями широкого спектру дії за показниками мінімальних інгібуючих (МІК) концентрацій – 2-400 мкг/мл та мінімальних бактеріцидних

(МБК) концентрацій – 2-1000 мкг/мл. Серед метилових естерів різних бензентіосульфокислот найвищу антибактеріальну дію проявляє сполука **1г**. Заміна метильного фрагменту на трихлорметильний фрагмент не привела до бажаного підвищення їх антибактеріальної дії, серед сполук **2а-в** лише тіосульфоестер **2б** виявляє достатньо високу антибактеріальну дію на три штами бактерій роду *Xanthomonas*, до усіх інших бактерій їх дія проявляється в значно вищих концентраціях.

Достатньо високоефективною антибактеріальною сполукою щодо усіх досліджених штамів бактерій є *β*-хлоретиловий естер тіосульфанілової кислоти (**3г**), для якого МІК та МБК знаходяться у межах 10-100 мкг/мл.

Одержані результати дії синтезованих естерів тіосульфокислот проти фітопатогенних мікроорганізмів свідчать про перспективність пошуку нових засобів захисту рослин від бактеріальних та грибкових захворювань серед цього класу органічних сполук, що є структурними аналогами природних фітонцидів.

**Література:**

1. Peinado J.. Garlic derivative propyl propane thiosulfonate is effective against broiler enteropathogens in vivo./M. J. Peinado , R. Ruiz , A. Echavarri , and L. A. Rubio.// Poultry Science.- 2012.- Vol. 91.- P. 2148–2157
2. Block E.. Allium chemistry, structure, synthesis, natural occurrence in onion (allium, cepa), and reactions of 2,3-dimethyl-5,6-dithiabicyclo[2.1.1]hexene S-oxidens / E. Block, M. Thiruvazhi, P. Toscano [et al.] // J. Am. Chem. Soc. – 1996. – Vol. 118. – P. 2790-2798.анізмів
3. Nakamura Y. S-methyl methanethiosulfonate, a new antimutagenic compound isolated from Brassica oleracea L. var. botrytis./ Y. Nakamura. T. Matsuo. K. Shimoi. Y. Nakamura. and I. Tomita// BioI. Pharm. Bull. – 1993.-№16.-P. 207-209.
4. Lubenec V. I. Thiosulphonic acid derivatives : synthesis and properties. Ukr. Khim. zh. 2003, 69 (3), 109–117. (In Ukrainian).

**Мороз И.В., Лобанок А.Г.**
Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

## ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА КОМПЛЕКСНОГО ЦЕЛЛЮЛОЛИТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА

*Ultrafiltration membranes were selected for concentration of supernatant of Trichoderma viride culture producing enzymes hydrolyzing plant polymers. Test specimen of enzyme preparation containing cellulase, xylanase and β – glucanase was produced and its significant properties were characterized. The obtained results support attractive application prospects of complex cellulolytic preparation in formulation of composite feed products*.

В настоящее время ферменты, расщепляющие растительные полисахариды, широко **применяются в различных отраслях промышленности и сельском хозяйстве. Важным направлением использования полисахаридразрушающих ферментов (или карбогидраз) является кормопроизводство. Известно, что некоторые растительные компоненты** (клетчатка, гемицеллюлоза и др. полисахариды) находятся в кормах в трудно доступной форме. Наиболее эффективным решением проблемы улучшения перевариваемости и повышения питательной ценности кормов является введение в их состав ферментов, способных разрушать клеточные стенки растений и гидролизовать крупные молекулы некрахмалистых полисахаридов. В связи с разнообразием химического строения растительных полимеров, наиболее эффективным является использование комплекса полисахаридразрушающих ферментов. Биодеградацию самого распространенного биополимером на Земле целлюлозы и ее производных осуществляют целлюлолитические ферменты: эндоглюканазы, экзоглюканазы и *β*-глюкозидазы. Деструкцию основного компонента гемицеллюлоз – ксилана катализируют ксиланазы. Одним из существенных компонентов ферментативного комплекса, расщепляющего некрахмальные полисахариды – гемицеллюлозы и продукты расщепления целлюлозы, является *β*-глюканаза.

Ранее нами проведен двухэтапный скрининг продуцентов целлюлолитических ферментов среди коллекционных и выделенных из природной среды грибных культур. В качестве перспективного продуцента указанных ферментов отобран штамм *Trichoderma viride* [1], определены состав питательной среды и параметры глубинного культивирования гриба. Цель данной работы – получение на основе *Tr. viride* ферментного препарата целлюлолитического действия и характеристика его свойств.

Глубинное культивирование штамма-продуцента проводили в колбах Эрленмейера объемом 2000 мл с 600 мл питательной среды на основе свекловичного жома на качалке (180–220 об/мин) при 28$^{o}$C в течение 96 ч. По окончании культивирования биомассу отделяли фильтрованием, фильтрат культуральной жидкости (ФКЖ) использовали для анализов. Целлюлазную, ксиланазную и *β*-глюканазную активности определяли согласно [2].

Отработку условий получения ферментного препарата проводили методом ультрафильтрационного концентрирования ФКЖ гриба с использованием мембран различной селективности (10-100 кД).

Определение оптимальных условий действия ферментов проводили в диапазоне pH 3,0-8,0 и температуры 30-80 $^{o}$C. Термо- и pH-стабильность ферментов оценивали по остаточной активности после 20-60 – минутного прогревания при 30-80 $^{o}$C (pH 5,0) и после инкубации в течение 1 ч при pH 3,0-8,0 (40 $^{o}$C). В качестве стабилизирующих добавок ферментного препарата использовали $(NH_4)_2SO_4$ (1-2 мМ); бензоат натрия (0,25 %) и сорбит (15 %).

Установлено, что для концентрирования и частичной очистки ФКЖ *Tr. viride* следует применять ультрафильтрационные мембраны с пределом отсечения 10 кД, обеспечивающие

минимальные потери ферментативной активности (12-16 %). Для наработки опытного образца целлюлолитического препарата использовали мембрану УПМ-10 («Владипор», Россия). Полученный образец ферментного препарата представлял собой жидкость коричневого цвета и характеризовался активностью целлюлазы – 156,2 ед/мл, ксиланазы – 1799,7 ед/мл и *β*-глюканазы – 433,6 ед/мл.

Для эффективного практического использования ферментных препаратов необходима характеристика их физико-химических свойств. Показано, что максимум активности целлюлазы *Tr. viride* отмечается в диапазоне температур 40-50°С, ксиланазы – 45-50°С, *β*-глюканазы – от 40 до 45°С. pH-оптимум исследуемых карбогидраз находится в пределах от 4,5 до 5,5. В более кислых условиях (pH 3,0) ферменты теряют 50-60 % ферментативной активности. При значениях pH свыше 6,0 активность ферментов также снижается. Исследуемая целлюлаза сохраняет более 90 % ферментативной активности после 60-минутного прогревания при температуре 30-50°С, ксиланаза полностью сохраняют свою активность при часовом инкубировании при 30-45°С, а β-глюканаза после 30-минутного выдерживания - при 30-45°С и в течение 60 минут при 30-40°С. Целлюлаза и ксиланаза стабильны в диапазоне значений pH 4-6, *β*-глюканаза в исследуемом диапазоне сохраняет свыше 65% активности.

В качестве стабилизаторов ферментного препарата *Tr. viride* могут быть использованы все испытанные вещества. В связи с низкой стоимостью и большей растворимостью предпочтительным является использование сульфата аммония (1,5 мМ), который обеспечивает гарантированное хранение препарата в течение 6-ти месяцев при 4-10$^{o}$С.

Согласно проведенным токсиколого-гигиеническим исследованиям ферментный препарат *Tr. viride* не обладает патогенными, токсическими и раздражающими свойствами, относится к 4 классу опасности (вещества малоопасные, $ЛД_{50}$ более 5000 мг/кг) и может быть рекомендован к использованию в кормопроизводстве.

Таким образом, методом ультрафильтрационного концентрирования ФКЖ *Tr. viride* наработан опытный образец целлюлолитического препарата, содержащего комплекс карбогидраз, включающий целлюлазу, ксиланазу и *β*-глюканазу. Результаты исследования основных физико-химические свойств, стабильности и токсиколого-гигиенических испытаний указывают на перспективность применения препарата при изготовлении комбикормовой продукции.

**Литература:**

1. Мороз И.В., Михайлова Р.В., Шахнович Л.В., Лобанок А.Г. Поиск грибных продуцентов целлюлолитических ферментов. Труды БГУ. Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем». 2013; 8 (1): 221-223.
2. Препараты ферментные. Методика выполнения измерений β глюканазной, ксиланазной, целлюлазной активностей: МВИ.МН 3235–2009. – Введ. 30.09.09. – Минск : РУП «Белорус. гос. ин-т метрологии», 2009. – 36 с

**Мурыгина В.П.[1], Гайдамака С.Н.[1], Гладченко М.А.[1], Зубайдуллин А.А.[2]**
[1]Химический факультет Московского Государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия
[2]ЗАО Сибирский научно-исследовательский и проектный институт рационального природопользования ("СибНИПИРП"), Нижневартовск, Россия

## ГЕОКОНТЕЙНЕРНАЯ ТЕХНОЛОГИЯ ДЛЯ РЕМЕДИАЦИИ ЗАГРЯЗНЕННЫХ НЕФТЬЮ ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ, ЗАПАДНАЯ СИБИРЬ, РОССИЯ

*In Western Siberia, Khanty-Mansi Autonomous Okrug-Yugra, Nizhnevartovsk, the geotube remediation technology has been applied for the first time on lake sediments polluted with oil. Forty four geotubes were filled with the pulp of sediments from three lakes and laid so for two years. After 2 years, the research showed that the concentrations of total petroleum hydrocarbons (TPH), aromatic hydrocarbons and resins-asphaltenes in the soil from the geotubes decreased by 80.6%-97.5%, 64.6%-92.5%, and 45.2%-77.1%, respectively, compared to the initial pollution in lake sediments (807.4±44.9g/kg DM). The soils from the geotubes contain a lot of oil-oxidizing bacteria, heterotrophic and autotrophic microorganisms and have a high biological activity and no phytotoxicity.*

**Введение.**

Очистка донных отложений водных объектов от ксенобиотиков - сложное и трудоемкое дело. За рубежом [1-4] и в России [5-8] разработаны и применяются различные технологии ремедиации таких объектов. В данной работе представлен первый опыт применения геоконтейнерной технологии в северном регионе России.

**Цель.**

Оценить эффективность применения геоконтейнерной технологии для очистки донных отложений трех безымянных озер, загрязненных нефтью в условиях Западной Сибири.

**Материалы и методы.**

В Тюменской области, в Нижневартовском районе Ханты-Мансийского автономного округа - Югры донные отложения из трех безымянных озер, загрязненных нефтью, были извлечены земснарядом с глубины около 1 м и закачаны в геоконтейнеры. В пульпу добавили флокулянт для уплотнения торфа. 44 геоконтейнера были размещены в два ряда один над другим для экономии места и улучшения отхождения воды из геоконтейнеров нижнего ряда. Геоконтейнеры с загрязненными донными отложениями пролежали в течение двух лет, подвергаясь замораживанию и оттаиванию в соответствии со сменой времен года в Нижневартовском районе ХМАО-Югра. Из 44 геоконтейнеров выбрали случайным образом 14, расположенных, как в верхнем, так и в нижнем ярусе. Из них, из 4-х точек, отбирали на анализ усредненные пробы осушенного донного осадка (грунта). Были проведены химические, агрохимические, биохимические и микробиологические анализы, методами, принятыми в России, и поставлены эксперименты для определения фитотоксичности грунтов.

**Результаты.** Химические анализы исследуемых проб из геоконтейнеров показали, что материал, экстрагируемый из грунта хлороформом (МЭХ), существенно уменьшился по сравнению с исходным загрязнением (рис.1). Анализ деградации каждой фракции углеводородов в геоконтейнерах под действием аборигенной микрофлоры показал, что в обезвоженных грунтах содержание НП, ароматических углеводородов и смолисто-асфальтеновой фракции уменьшилось на 80,6%-97,5%, 64,6%-92,5%, 45,2%-77,1%, соответственно, а содержание окисленных веществ, уменьшилось на 48,4%-86,5% (рис.1).

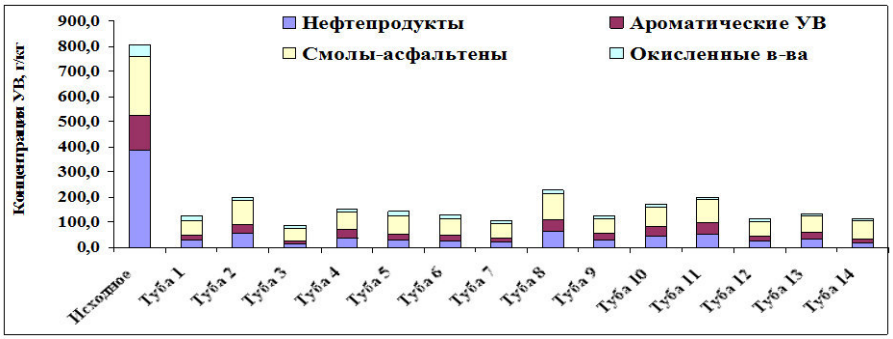



Рис. 1. Деградация нефтяного загрязнения в геоконтейнерах после двух лет обезвоживания донных осадков из трех безымянных озер (фракционирование + гравиметрия)

**ГХ** анализ подтвердил результаты, полученные методом гравиметрии (рис.2.)

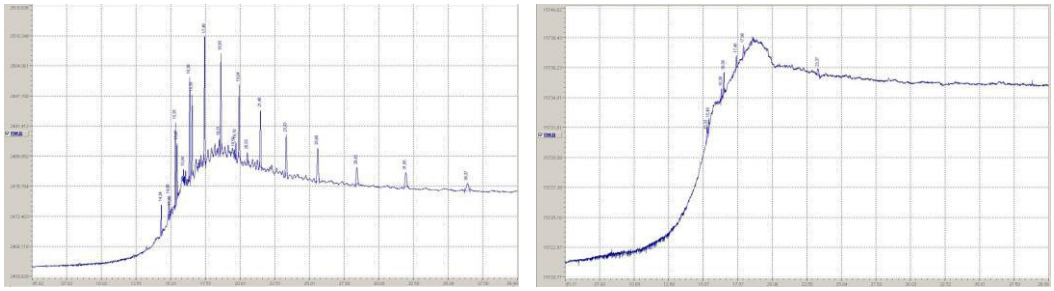


Рис. 2. Газохроматографический анализ нефтепродуктов в исходном донном осадке, загрязненным нефтью (слева), и в грунте из геоконтейнера №1 (справа)

**Выводы.** Концентрация нефтепродуктов, ароматики и смолисто-афсфальтеновых веществ в грунтах из геоконтейнеров после обезвоживания в течение 2-х лет существенно снизилась. Грунты богаты разнообразными видами микроорганизмов, в том числе способными фиксировать азот из воздуха. Высокая биологическая (пероксидазная, дегидрогеназная, уреазная и целлюлазная) активность грунтов из геоконтейнеров позволяет использовать их в природе. Грунты не обладают фитотоксичностью, процент прорастания семян тест-объекта составляет величины от 51 до 100%. Технология обезвоживания осадков с помощью геоконтейнеров вполне пригодна для очистки от нефтяного загрязнения озерных донных отложений.

**Литература:**

1. Presenter's Manual for: Remediation of Contaminated Sediments//United States Environmental Protection Agency (ЕПА, 2004), 58 p.
2. Nerijus Blažauskas, Lennart Larsson, Susanne Rostmark// Technologies and Solutions for Handling of Contaminated Sediments. State-of-the-art review// Title of project: Sustainable Management of Contaminated Sediments, Report, 2012, 132 p
3. Joseph Harrington & Gary Smith //Guidance on the Beneficial Use of Dredge Material in Ireland // Report commissioned by Environmental Protection Agency, October 2013, 96 p.
4. Marie-Claude Wilson, Romeo Ciubotariu, William J. Hague //A Successful Multi-Layer Sediment Capping Structure in Shallow Water//, Remediation of Contaminated Sediments— 2013. Seventh International Conference on Remediation of Contaminated Sediments (Dallas, TX; February 4–7, 2013). ISBN 978-0-9819730-6-7, ©2013 Battelle Memorial Institute, Columbus, OH. www.battelle.org/sedimentscon, 2013
5. Патент RU 2 246 451(13) C110.09.2003
6. Патент 2260652, 2004 г
7. Евразийский Патент 009507, 2004
8. Лушников С.В., Воробьев Д.С. // ЭКиП: Экология и промышленность России. - 2006. - N 10, стр 11-13

**Нехведович С.И.**
РУП «Институт защиты растений», НАН РБ, Прилуки, Республика Беларусь

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ МИКРОБИОПРЕПАРАТОВ В КОНТРОЛЕ БОЛЕЗНЕЙ ЛЬНА МАСЛИЧНОГО В БЕЛАРУСИ

*The results of efficiency evaluation while oil flax cultivation in Belarus are presented. It is shown that pre-sowing seed treatment by biological preparations Trichodermin-BL (5 kg/t) and Fungilex, L (2,5 l/t) decreased sowing material infection, increased field seed germination and inhibited the main diseases development at original stages of crop vegetation. It is determined that the application of biological preparations Trichodermin-BL (2 % s.l.) and Fungilex, L (1 % s.l.) during crop vegetation by plants spraying promoted oil flax anthracnose and fusariosis development decrease, restricted their distribution during crop vegetation and also increased oil flax biological yield.*

**Введение**. Лен является традиционной прядильно-масличной культурой выращиваемой в Беларуси. Сегодня это продукт многоотраслевого использования: волокно успешно используется в текстильной промышленности; масло – в технических, медицинских и косметических целях; жмых и шрот – как корм в животноводстве; костра – в различных отраслях промышленности. Для удовлетворения потребностей населения республики в ближайшее время для пищевых и медицинских целей возникает необходимость производить в год около 5-6 тыс. тонн льняного масла, имеющего высокую пищевую и диетическую ценность [1]. Следовательно, дальнейшее развитие льноводства может осуществляться главным образом за счет повышения урожайности этой культуры. Повышения качества продукции переработки возможно за счет малоэнергоемких, экологизированных, ресурсосберегающих современных средств защиты растений, т.е. в переходе к таким методам и средствам, которые были бы направлены на сохранение равновесия в агробиоценозе, в том числе преимущественного использования биологических препаратов [4].

В связи с этим, целью работы была оценка защитного и ростостимулирующего действия отечественных биологических препаратов.

**Материалы и методы.** Исследования проводили в лабораторных и полевых условиях в 2013 и 2015 гг. на базе РУП «Институт защиты растений». Фитопатологическую экспертизу семян льна масличного осуществляли биологическим методом. Оценку зараженности семян комплексом возбудителей болезней осуществляли в соответствии с межгосударственным стандартом [2]. Полевые эксперименты проводили согласно методике полевых испытаний [3]. При проведении учетов пораженности растений льна масличного основными болезнями в период вегетации использовали стандартные фитопатологические методики [4].

В исследованиях использовали биопрепараты на основе грибов-антагонистов: Триходермин-БЛ – на основе штамма *Trichoderma viride* Т 13-82 с нормой расхода 5 кг/т – при обработке семян; 2 %-ная р.ж. – при обработке вегетирующих растений и Фунгилекс, Ж – на основе штамма *Trichoderma* sp. D-11 с нормой расхода 2,5 л/т – при обработке семян; 1,0 %-ная р.ж. – опрыскивание растений. **Результаты исследований.** Установлено, что применение препаратов Триходермин-БЛ (5 кг/т) и Фунгилекс, Ж (2,5 л/т) на стадии предпосевной обработки способствовало повышению полевой всхожести семян на 14,3-19,8 % и ингибированию фитопатогенных микромицетов на 18,0-73,5 % (при инфицированности семян в варианте без обработки 94,0-96,5 %).

Показано, что предпосевная обработка биологическими препаратами семян льна масличного уменьшает зараженность посевного материала, повышает полевую всхожесть семян и сдерживает развитие основных болезней на начальных этапах вегетации культуры. Так, развитие антракноза при применении препарата Фунгилекс, Ж (2,5 л/т) в годы исследований варьировало от 4,4 до 14,7 % (при развитии болезни в варианте без применения препаратов для предпосевной обработки семян – 15,6-20,0 %). Использование биопрепаратов способствовало повышению урожайности семян. Максимальный

урожай семян был получен в 2015 г. при применении Фунгилекс, Ж (2,5 л/т) и составил 28,4 ц/га (при урожайности в варианте без применения препарата для предпосевной обработки семян – 19,0 ц/га).

Известно, что препараты для предпосевной обработки семян имеют ограниченный срок защитного действия. Большинство возбудителей болезней поражают растения в течение всей вегетации льна масличного. Поэтому использование препаратов в период вегетации культуры представляется перспективным для усиления защитного эффекта. Установлено, что применение в фазе «елочка» биопрепаратов Триходермин-БЛ и Фунгилекс, Ж путем опрыскивания растений 2 % и 1 %-ной рабочей жидкостью соответственно, способствовало снижению развития болезней и ограничивало их распространение в период вегетации культуры. Учет, проведенный в фазе интенсивного роста показал, что в варианте без применения биопрепаратов развитие антракноза составляло 15,8-23,1 %, в вариантах с применением Триходермина-БЛ (2 %-ная р.ж.) и Фунгилекса, Ж (1 %-ная р.ж.) развитие болезни было ниже и варьировало от 4,7 до 17,7 %. Биологическая эффективность препаратов достигала 70,3 %. В фазе желтой спелости в варианте без применения биопрепаратов развитие антракноза составило 14,0-38,1 %. Использование биопрепаратов положительно сказалось на стабилизации фитопатологической ситуации в посевах льна. Биологическая эффективность по снижению развития антракноза к концу вегетации варьировала от 64,2 % (Триходермин-БЛ) до 46,4 % (Фунгилекс, Ж).

Необходимо также отметить, что изученные препараты эффективно контролировали развитие фузариоза, который максимально проявился в 2013 г.: снижение развития болезни составило 85,1 % (Триходермин-БЛ) и 51,1 % (Фунгилекс, Ж).

Отмечено положительное влияние биопрепаратов на рост растений, что способствовало повышению биологической урожайности семян на 0,8-24,0 ц/га. Биологическая урожайность семян составила 19,6-45,0 ц/га (при урожайности в варианте без применения биопрепаратов – 9,4-20,8 ц/га).

Таким образом, биопрепараты Триходермин-БЛ (5 кг/т) и Фунгилекс, Ж (2,5 л/т) при предпосевной обработке семян позволили снизить нагрузку семенной инфекции на 18,0-73,5 %, способствовали улучшению полевой всхожести на 14,3-19,8 %, снижению развития антракноза на начальных этапах развития культуры на 26,5-71,8 %. Применение биопрепаратов (Триходермин-БЛ – 2 %-ная р.ж. и Фунгилекс, Ж – 1 %-ная р.ж.) путем опрыскивания в период вегетации льна масличного способствовали снижению развития антракноза на 23,4-70,3 %, ограничению развития фузариоза на 51,1-85,1 %, а также увеличению урожайности семян на 0,8-24,0 ц/га.

**Литература:**

1. Ганущенко, О. Актуальность расширения посевов льна масличного в Беларуси / О. Ганущенко // Веды. – 2011. – № 40 – С. 4.
2. ГОСТ 12044-93 Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения зараженности болезнями. – М.: Стандартинформ, 2011. – 55 с.
3. Доспехов, Б.А. Методика полевого опыта / Б.А. Доспехов. – М.: Колос. Изд. 5-е. – 1985. – 351 с.
4. Методические указания по регистрационным испытаниям фунгицидов в сельском хозяйстве / под ред. С.Ф. Буга. – Несвиж: Несвиж.укруп. тип. им. С. Будного, 2007. – 448 с.
5. Методические указания по проведению регистрационных испытаний биопрепаратов для защиты растений от вредителей и болезней / сост. Прищепа Л.И. [и др.]. – Минск: МОУП «Несвижская укрупненная типография им. С. Будного», 2008. –56 с.

**Новик В. / Nowick W.**
Private Institute of Applied Biotechnology daRostim, Germany
Частный институт прикладной биотехнологии daRostim, Германия

## RESULTS OF THE INCREASE IN PRODUCTIVITY IN CROP PRODUCTION AND THE REDUCTION OF NITROGEN FERTILIZER DURING THE APPLICATION OF AGRICULTURAL PRACTICE AREAS IN GERMANY WITH A COMBINATION OF PLANT HORMONES AND HUMIC ACIDS (PHC) - IN THE PROGRAM TANDEM $^{12/21}$

## РОСТ ПРОДУКТИВНОСТИ РАСТЕНИЕВОДСТВА И ПОТЕНЦИАЛ ЭКОНОМИИ АЗОТНОГО УДОБРЕНИЯ ПРИ ОБРАБОТКЕ ОПЫТНЫХ ПОЛЕЙ ГЕРМАНИИ КОМБИНАЦИЯМИ НА ОСНОВЕ ГУМИНОВЫХ И ФИТОГОРМОНАЛЬНЫХ СОСТАВЛЯЮЩИХ (PHC) – В РАМКАХ В РАМКАХ ПРОГРАММЫ TANDEM $^{12/21}$

*Agriculture in Germany has reached no environmental objective in the last 10 years. It is time that the good farmers together with consultants and researchers show everyone else how to do it. As it goes, with acceptable balances to achieve good yields and with low N and P excesses to earn good money [1].*

The potential of plant and soil adjuvants to increase productivity of crops, having at the same time environmental benefits, will be discussed in this context in Germany still controversial. Unlike in Eastern Europe, where the fertilizer use and yields are traditionally in much lower level and is reported regularly since 1999 on revenue growth of 15-40% for the same fertilizer used [2]. In the past 20 years have been particularly in Ukraine, Russia and Belarus fundamental scientific work, carried out to two classes of plant growth regulators - Phytohormones and humic acids. There the mechanisms of action have been solved and collecting practices experience on several million hectares are published [3].

The achieved level of knowledge is a starting point for the International Long-Term Program Tandem$^{12/21}$ to increase the biological soil fertility and to build a sustainable biological nutrient reserves in the soil, in where the compositions of these two classes – the so called PhytoHuminCompounds (PHC) - are used [4]. On long-term program Tandem$^{12/21}$ and the two upstream research projects Radostim A * B and future$^{9/12}$ since 2004 German farms with intensive economy involved. About 170 practice areas with a total area of about 3000ha were treated up to 12 years with plant hormone-humic acid compositions (PHCs) [5, 6].

The article reports about the long-term development of biological soil parameters: humus, nitrogen-fixing bacteria and phosphorus mobilizing bacteria. In addition, the changes in production functions, standardized to cereal units (CU) are evaluated. A first conclusion says, that adjust depending on the location and soil quality index the yield peaks raised up to 2 to 10 CU while a simultaneously around 10-40kg N / ha reduced N-use. The results are discussed at the YEN model and explained [7]. At medium soil quality index (45-50) PHCs cause activation of about 1kg plant-available biological nitrogen per hectare from 1 million CFU/g of free-living air-nitrogen-fixing bacteria in the soil. Their concentration achieved with repeated PHC use equilibrium values of 20-30 million CFU/g. PHC applications are therefore an appropriate means, while increasing productivity to improve the N balance of German agriculture around 15-35 kg N/ha, to reduce potential environmental impacts and to meet the requirements of the new fertilizer ordinance more effectively [8].

**Literature**


1. F. Taube “Warum der ganze Stress ?, DLG-Mittteilungen 3/16, Seite 15-18
2. S.Ponomarenko, G.Iutinska, P.Shimenko, K.Nowick, W.Nowick, Plant Growth Regulators – a technology for ecological orientated agriculture production, Conference SATERRA 99, May 1999, University of Mittweida, Germany, Proceedings, p. 101, 1999
3. NEW PLANT GROWTH REGULATORS: basic research and technologies of application, Chapter 1, Bioregulation of plant growth and development, ed. by S.P.Ponomarenko, L.A.Anishin,O.V.Babayants, Z.M.Hrytsarenko, O.I.Terek, Hu Wenxiu, Y.Y.Borovikov, W.Nowick, P.H.Zhimenko, T.V.Moiseeva, Kiew, Nichlava, 2011
4. W.Nowick, S.Ponomarenko, O.Gladkov, Tandem12/21 – The International Long Term Program to Increase the Biological Soil Fertility and to Establish of Sustainable Biological Nutrient Resource in the Soil by Applying Phytohumincompounds (PHCs), Proceedings of Second International Conference of CIS IHSS on Humic Innovative Technologies HiT2012, p.39, Moscow, Russia, 2012
5. W.Nowick, Phytohumic complexes (PHCs) - A technology of the daRostim Institute for the solution of some economic and ecological roles in the modern plant production, The IX daRostim-Conference, Phytohormones, humic substances and other biologically active compounds for agriculture, human health and environmental protection Proceedings, p.95, Lviv Polytechnic National University, Lviv, Ukraina, 07.-10.10.2013, ISBN: 978-617-607-488-5, 2013
6. W.Nowick, Aktuelle Ergebnisse der Applikation von Phytohormon-Huminsäure-Kompositionen (PHCs) zur Verbesserung der Bodenfruchtbarkeit im internationalen Langzeitprogramm Tandem12/21 (2012-2021), Veröffentlichungen der 10. daRostim Konferenz, Moskau, Sonderdruck (de), 2014
7. Nowick, W., Nowick H., Zinchenko V.A. - The YEN – Chart, On the share of chemical and biological nitrogen in the total yield forming of winter wheat on the example of Germany and Ukraine – Proceedings daRostim-Conference, p.211, Kiew, Nov.2012
8. W. Nowick, The potential of PhytohuminCompounds (PHC) as standard preparations to increase productivity of agricultural crops, The 4th International Conference on Integration of Science and Technology for Sustainable Development “Biological Diversity, Food and Agricultural Technology”, ICIST 2015, Hanoi, Vietnam, 27.-28.11.2015, International Journal of Agricultural Technology (IJAT) (to be published), 2015

**Новик В. / Nowick W.**
Private Institute of Applied Biotechnology daRostim, Germany

## ON THE DYNAMICS OF THE CONCENTRATION OF PHYTOPATHOGENIC SOIL BACTERIA ON TEST AREAS OF THE TANDEM$^{12/21}$ PROGRAM

## ДИНАМИКА КОНЦЕНТРАЦИИ ФИТОПАТОГЕННЫХ ПОЧВЕННЫХ БАКТЕРИЙ НА ОПЫТНЫХ ПОЛЯХ ГЕРМАНИИ В РАМКАХ ПРОГРАММЫ TANDEM$^{12/21}$

*Предварительные результаты позволяют предположить: при регулярном применения Phytohumin humic acid combinations (PHC), баланс патогенных и полезных бактерий в почве смещается в сторону полезных*

*We found the first evidence that the relative share of phytopathogenic bacteria in soil will be reduced by the application of Phytohumin humic acid combinations (PHC).*

In a period of 5 years on 5 practice areas of Tandem1221 program the evolution of the concentration of phytopathogenic bacteria [1], air-nitrogen-fixing bacteria N and phosphorus mobilizing bacteria P [2] was determined. The measurements were made on soil samples taken from the end of March or the end of October. The areas 1 and 2 were control areas, the cultures on the areas 3,4,5 were treated in spring with the phytohormone humic acid combination (PHC) Tandem F, the soil of the areas 3,4,5 from 2012 were again treated in autumn with the preparation tandem H. The soil index of practice areas and the crops being grown shows Table 1:

| practice areas | treatment | Soil index | 2011 | 2012 | 2013 | 2014 | 2015 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | control | 32 | WW | WG | RP | WW | WG |
| 2 | control | 65 | RP | WR | GR | WW | HF |
| 3 | Tandem F,H | 46 | SM | WW | RP | WG | SM |
| 4 | Tandem F,H | 33 | WG | WR | RP | WG | WR |
| 5 | Tandem F,H | 37 | SG | WG | RP | WW | SG |

Tablle 1: Crop rotation
WW – winter wheat, WG – winter barley, RP – winter rape, GR – grass, HF - oats, SM - silage maize, WR - winter rye, SG - spring barley

The temporal evolution of bacterial concentrations and their tendency and the ratio of phytopathogenic bacteria to the sum of all specific bacteria (pathogenic / (pathogenic + N + P)) is shown in Figure 1. It can be seen, that the ratio increases or is nearly constant in the control areas. On the treated areas with tandem we observed after 2 to 3 years a shift to smaller values of the ratio, meaning that the relative proportion of phytopathogenic bacteria back in the soil. The Phenomen to be examined more closely in the future by a larger number of samples.

Acknowledgements:
For the laboratory analyzes and discussions on the subject, the author want to thank at I. Feklistova and G. Iutinska.

1. I. Feklistova, Lab reports, State University Minsk, Faculty of Biology (unpublished)
2. G. Yutinska, Lab reports, Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev (unpublished)

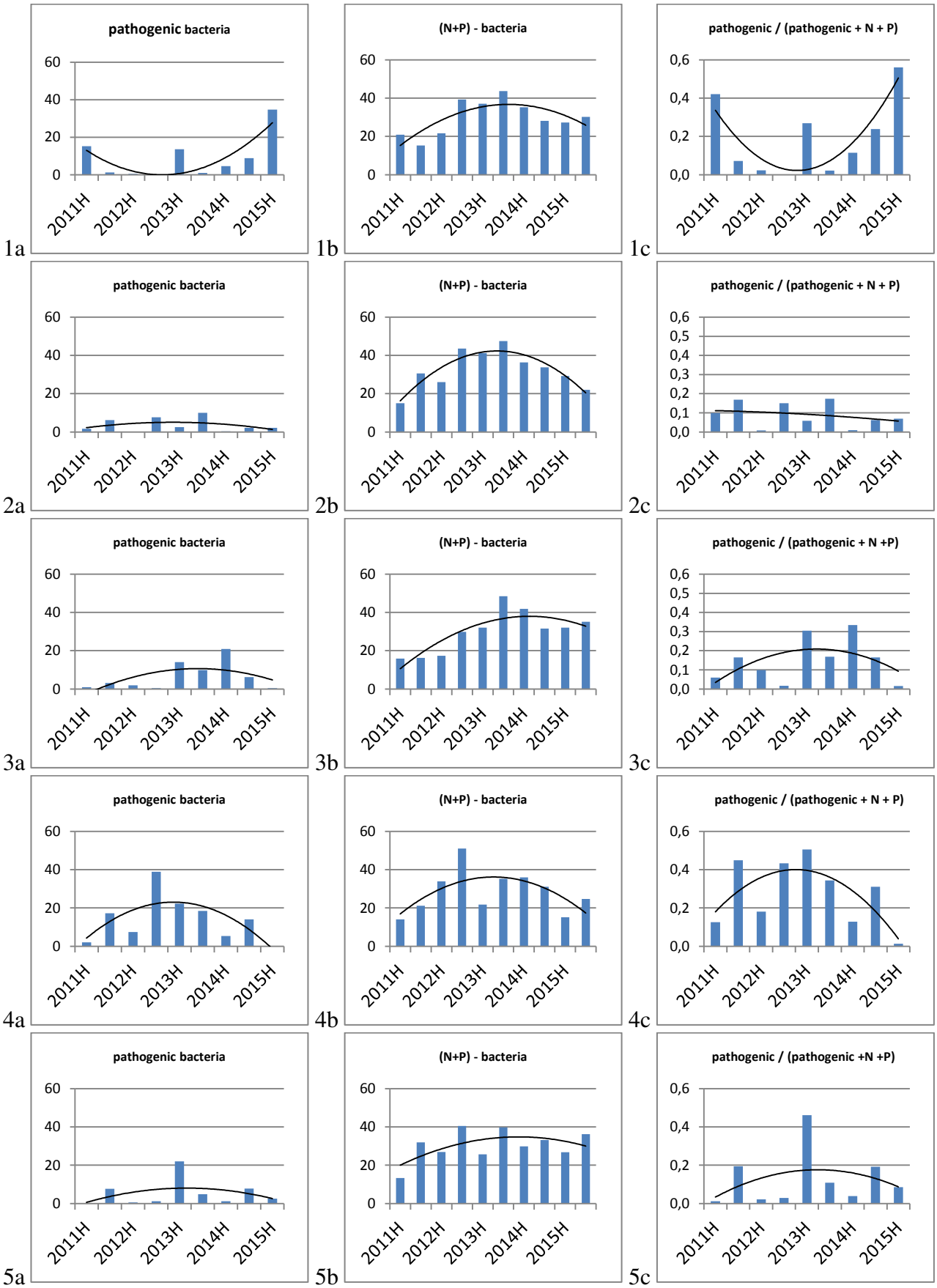



Figure 1: Temporal evolution of pathogenic (a) , nitrogen fixing plus phosphorus mobilizing (N+P) bacteria (b) and their relationship (c), for 5 practice areas (bacteria concentration in soil in Mio. CFU /g)

**Новик В. / Nowick W.[1], Карпенко Е.В.[2], Хуршкайнен Т.В.[3]**
[1]Частный институт прикладной биотехнологии daRostim, Германия
[2]Отделение физико-химии горючих ископаемых ИнФОВ им. Л.Н.Литвиненко НАН Украины, Львов
[3] НИИСХ Республики Коми Россельхозакадемии, г. Сыктывкар, Россия

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗМЕРЕНИЙ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА ПРИ ОБРАБОТКЕ СЕМЕННОГО МАТЕРИАЛА ПШЕНИЦЫ БИОФУНГИЦИДОМ ВЕРВА

## THE RESULTS OF THE CHLOROPHYLL FLUORESCENCE MEASUREMENTS AT SEED TREATED BY BIOFUNGICIDE WERWA WINTERWHEAT

*Мы исследовали добавление biofungicide WerWa к BOSTAR-система для обработки семян озимой пшеницы. Из измерений флуоресценции рассчитывали рост выручки 5-12%.*

*We investigated the addition of biofungicide Verwa to the BOSTAR-System for seed treatment of winter wheat. From fluorescence measurements a revenue growth of 5-12% was calculated.*

### Tandem BOSTAR Array

The treatment of seeds with fungicides and insecticides is an effective instrument for ensuring a stable and healthy growth of the plant in the initial stage. In recent years many synthetic fungicides and all synthetic insecticides have been banned because of their harmful effect on health and the environment. The search for alternative preparations is has become a current day job. The Tandem BOSTAR array is a successful attempt to solve this problem. BOSTAR (Bio Organic Seed Treatment Array) is the result of international tandem cooperation, based on the combinatorial effect of phytohormones and humic acids (PHC). It is free of chemically synthesized fungicides and insecticides.

The width of the multifunctional activity spectrum of BOSTAR can be adapted by the modular selection of the additives used in the various systems of the treatment of seeds. Currently, there are 6 systems in the Tandem array of BOSTAR: Basic, Standard, +1, +2, +3, +4. Each system can successfully work as an additive, but also be can used alone to treat seeds. Also electron beam treated seeds can be treated with the systems. BOSTAR is very effective even in problematic or older seeds [1].

| **daRostim® Tandem BOSTAR Array for cereals (6 systems)** | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **BOSTAR-Array** | **Basic** | **Standard** | **BOSTAR+1** | **BOSTAR+2** | **BOSTAR+3** | **BOSTAR+4** |
| phytohormones | X | X | X | X | X | X |
| humic acids | X | X | X | X | X | X |
| biosurfactants | X | X | X | X | X | X |
| endophytes | | X | X | X | X | X |
| adhesive | | X | X | X | X | X |
| Bio-insecticides | | | X | X | X | XX |
| Bio-nematicides | | | X | X | X | XX |
| Bio-fungicides | | | | X | X | XX |
| micronutrients | | | | | X | XX |

**Task**

The BOSTAR+ 2 system was compared with the system BOSTAR+1 in the past supplemented by the bio-fungicid "Bioschutz" (Bacillus Subtilis) [2]. We tested, what for productivity effects can be achieved through the bio-fungicide "WerWa" [3]. WerWa is a natural biologically and pharmacologically interesting extract, which is obtained by a cold physical extraction process, which does not destroy the active ingredients, from the needles of a fir tree growing in the Ural Mountains. The extract contains mainly triterpenics, monoterpenoids, carotenoids, polyprenols, phenols, environmentally friendly insecticides (Pheremones) et al. He was patented along with the manufacturing process in 2006 and classified as a biological broadband fungicide and insecticide.

**Experiments**

Two varieties of wheat (FRANZ, KOMETUS) were treatet with BOSTAR+1 or BOSTAR Basic (variants: A, B, D, E) and additionally by the synthetic plant protection preparation Rubin TT. The variants: B, E, C, F were additionally treated with Biofungizides: Bacillus subtilis (B, E), Bacillus Subtilis / WerWa (C, F). The variants C, F was treated without any synthetic components. (Table1):

| VARIETIES | TREATMENT VARIANTS | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| FRANZ | **A** | BOSTAR+1 | **B** | BOSTAR+1/Bacillus Subtilis | **C** | BOSTAR+1/Bacillus Subtilis/WerWa |
| KOMETUS | **D** | BOSTAR Basic | **E** | BOSTAR+1/Bacillus Subtilis | **F** | BOSTAR+1/Bacillus Subtilis/WerWa |

All other agronomic measures were comparable and oriented in accordance with the best of practical experience (Region Zwickau, Saxony, Germany) to achieving maximum crop in the.

| **Table 1** | | | **Fertilizer (kg N/ha)** | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **variants** | **date** | **plant protection** | **07.04.** | **25.04.** | **01.06.** |
| **A** | 12.04.2016 | Husar plus,CCC,Moddus,Phos60 | 52 | 114 | 38 |
| | 18.05.2016 | Opus Top,CCC,Moddus,Nutriphite Magnum,Cerone | | | |
| | 21.05.2016 | Skyway Xpro,Osiris, Biscaja,Nutriphite Magnum | | | |
| **B** | 20.04.2016 | Husar plus,CCC,Moddus,Primus perfect, Phos60, Tandem50 | 36 | 109 | 33 |
| | 19.05.2016 | Pronto Plus,Folicur,CCC,Moddus,Nutriphite Magnum,Cerone | | | |
| | 01.06.2016 | Skyway Xpro,Osiris, Biscaja,Nutriphite Magnum | | | |
| **C** | 12.04.2016 | Husar plus,CCC,Moddus,Phos60 | 41 | 114 | 38 |
| | 09.05.2016 | Pronto Plus, Unix,Nutriphite Magnum | | | |
| | 21.05.2016 | Skyway Xpro,Osiris, Biscaja,Nutriphite Magnum | | | |
| **D** | 12.04.2016 | Broaway, Primus perfect,CCC,Moddus,Phos60 | 47 | 121 | 39 |
| | 29.04.2016 | Pronto Plus, Phos60 | | | |
| **E** | 12.04.2016 | Broaway, Primus perfect,CCC,Moddus,Phos60 | 47 | 121 | 39 |
| | 29.04.2016 | Pronto Plus, Phos60 | | | |
| **F** | 12.04.2016 | Broaway, Primus perfect,CCC,Moddus,Phos60 | 47 | 121 | 39 |
| | 29.04.2016 | Pronto Plus, Phos60 | | | |

**Measurements and results**

From 16.03.2016 to 19.07.2016, 11 Measurements of chlorophyll fluorescence (Kautsky effect) were carried out with the meter FloraTest [4] (days: 76,84,91,98,112,119,127,133,141,193,201). The time trend of the maximum of fluorescence intensities $I_{max}$ (t) for the variants A to F are shown in Figure 1 and 2. It can be described with a quadratic approximation: $I_{max}$ (t) = $ax^2$+bx+c (Table 2):

| Table 2 | | a | b | c | | a | b | c | | a | b | c |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| FRANZ | **A** | -0,13 | 31,45 | -482,70 | **B** | -0,06 | 19,88 | -170,32 | **C** | -0,03 | 7,67 | 975,27 |
| KOMETUS | **D** | -0,16 | 38,86 | -942,69 | **E** | -0,14 | 34,00 | -629,91 | **F** | -0,18 | 46,59 | -1494,50 |

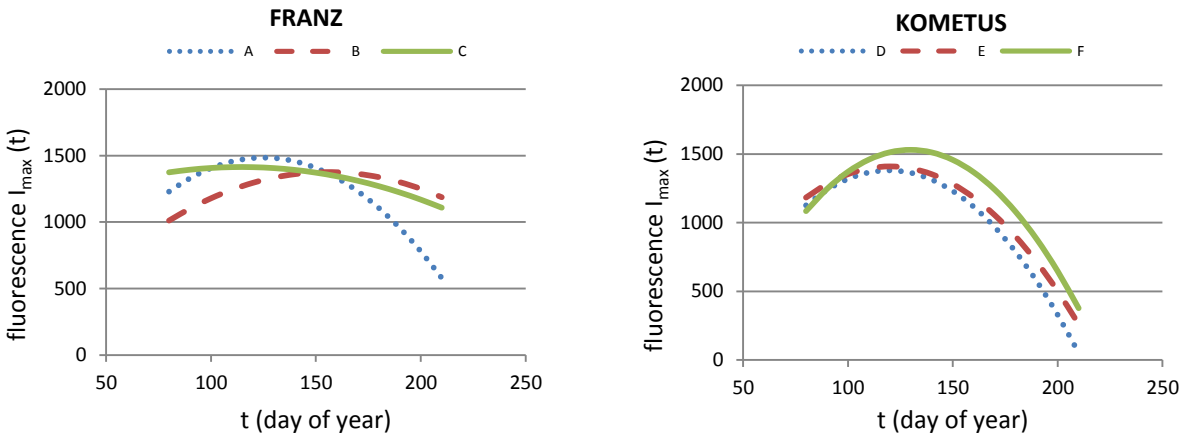



Figure 1, 2: Temporal evolution of the fluorescence intensity $I_{max}$ (t)

The fluorescence intensity $I_{max}$ (t) is approximately proportional to the potential photosynthetic activity. The yield potential P (productivity) can therefore be estimated by the integral $P = \int_{50}^{200} Imax(t)dt$ . Figure 3,4:

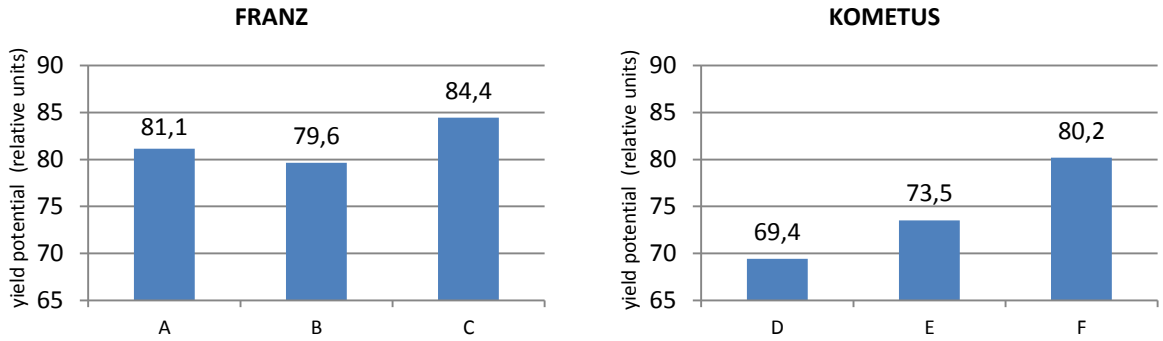



Figure 3, 4: Estimated yield potential P (productivity)

The highest yield potential was estimated for the variants C, F with WerWa . It is around 5% (FRANZ) or 12% (KOMETUS) over the control variants BOSTAR+1 or BOSTAR Basic. The only addition of Bacillus subtilis showing for both varieties diametrical results. The harvest is still to come. We report on the results later.

1. BOSTAR, prospekt daRostim 2016
2. Карпенко Е.В., Щеглова Н.С., Новик В., Использование биогенных поверхностно-активных веществ для повышения эффективности обработки семенного материала озимой пшеницы, IX конференцияdaRostim, с. 41, Lviv 2013, Ukraine
3. Хуршкайнен Т.В., Кучин А.В. Лесохимия для инноваций в сельском хозяйстве // Известия Коми научного центра Уро РАН. 2011. N
4. Romanov V.,Galelyuka I.,Hrusha V.,SarakhanYe, Biosensor for Express-Diagnostics of Plant States, V конференция Radostim ,с. 153, Днепропетровск,Украина, 2009

**Nowick Wolfgang[1], Sorge Reinhard[2], Ninnemann Horst[2]**
[1]daRostim Private Institute of Applied Biotechnology, Lichtenstein, Germany
[2]Novihum Technologies GmbH, Dresden, Germany

# ИЗУЧЕНИЕ ПРИ ПОМОЩИ ОПТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ПРОЛОНГИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ ГУМИНОВОГО ПРЕПАРАТА NOVIHUM НА ВИНОГРАДНИКАХ ГЕРМАНИИ

*Проводились трёхлетние наблюдения за пролонгированным действием препарата Novihum на винограднике при помощи оптических методов измерений динамики флюоресценции хлорофилла CFD (Chlorophyll-Fluoreszenz-Dynamik) и коэффициента хлорофилла DPCA (Digital-Photo-Chrom-Analyse). Положительный результат этих измерений сопровождался более активным развитием саженцев, более высокой витальностью растений, более высокой активностью процесса фотосинтеза и более высокими урожаями.*

*The long-term effect of the soil adjuvant Novihum on wine plantation was detected over a period of three years by measurements of chlorophyll fluorescence dynamics (CFD) and by DPCA Digital-Photo- Chrome-Analysis of the vine leaves. They correlate with faster plant growth, better vitalities, greater photosynthetic efficiency and higher yields for comparable qualities.*

## Введение

Novihum - это органо-минеральное азотное удобрение и выпускается в виде сухого гранулята. Цель применеия - стабильное и постоянное обеспечение почвы субстратами с высококачественным, азотсодержащим устойчивым гумусом. Ускоряется процесс трансформации питательных элементов в доступные для растения формы, повышается эффективность удобрений и устойчивость растений к стрессовым ситуациям, улучшаются свойства почвы удерживать и передавать растению питательные элементы. Novihum получают из бурого угля посредством химического процесса оксидативного аммонолиза и содержит около 82% гуминовых веществ (гуматы,гуминовые кислоты, фульвокислоты) и от 5,5 до 6,0% азота, 33% которого в доступной для растения форме. Содержание $N_{min}$ до 4,2 г/кг СВ (сухого вещества). За пролонгированное действие отвечают гуминовые вещества. Novihum служит источником постоянного пополнения устойчивым азотсодержащим гумусом почв, обедненных или не содержащих гумус. Novihum препятствует вымыванию питательных элементов. Нормы применения: от 0,5 до 2,0 кг/м$^2$.

## Постановка задачи

Ранее сообщалось [1], 16 мая 2013 года в регионе Grossräschener See (озеро Гроссрэшен) на рекультивированных терриконах на территории с/х предприятия Lindenfeld GbR был высажен виноградник по технологии Novihum. Были посажены 2 сорта винограда - Cabernet blanc и Solaris. Novihum вносился в объёме 470g/растение (лунка 16 литров) в двух вариантах - соло и вместе с противогрибвовым препаратом Cuxin Myko Aktiv - дополнительно к стандартной технологии посадки. Контроль - стандартная технология посадки.

Мы сопровождали эксперимент с момента высадки саженцев при помощи двух оптических методов - определение динамики флуоресценции хлорофилла: **CFD (Chlorophyll-Fluoreszenz-Dynamik)** и определение коэффициента хлорофилла **C*/%** (**DPCA - Digital-Photo-Chrom-Analyse**).

Рис. 1: Виноградник с/х предприятия Lindenfeld GbR, Германия,
терриконы региона Grossräschener See

**CFD - Chlorophyll-Fluoreszenz-Dynamik**

Впервые в 2014 году на молодых растениях проводились измерения для оценки динамики флуоресценции хлорофилла CFD. Принцип заключаетсч в следующем. На затемнённый в течении 10 мин (темновая адаптация или «состояние сна») участок листа диаметром 5 мм подаётся пучок синего света. Процесс фотозинтеза требует некоторое время, чтобы переключиться в активную фазу. В этот период не использованный свет отражается (Эффект Каутского). Протекание этого процесса имеет определённую динамику CFD, что можно увидеть при помощи прибора ФЛОРАТЕСТ, который рисует на экране кривую, которая позволяет определить параметры Каутского K1, K2, K3 [2,3],

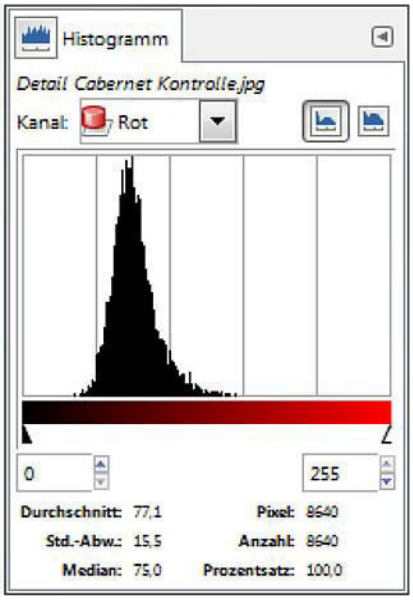
При сравнении с эталоном (эталонными кривыми) можно дополнительно вычислить относительный потенциал фотосинтеза PHS и показатели витальности растений $V_1$ (за короткий период) и $V_2$ (за длительный период времени) [1,4]. Как правило, растения, высаженные по технологии Novihum, показывают более высокий потенциал фотосинтеза, имеют более высокую степень витальности и быстрее развиваются, что само по себе хорошо заметно и визуально.

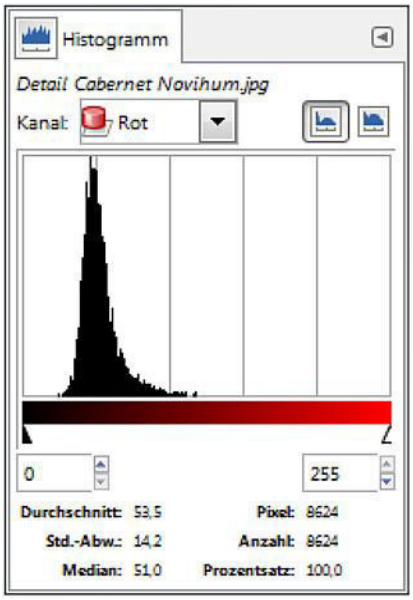
Однако, CFD зависит, конечно, и от многих других факторов, таких как, общее состояние растения, обеспеченность почвы питательными элементами, влияют и погодные условия, и количество осадков, и засушливые периоды. Ниже мы показываем результаты CFD-измерений на двух сортах винограда в период 2014 – 2016 (Рис. 2, 3).

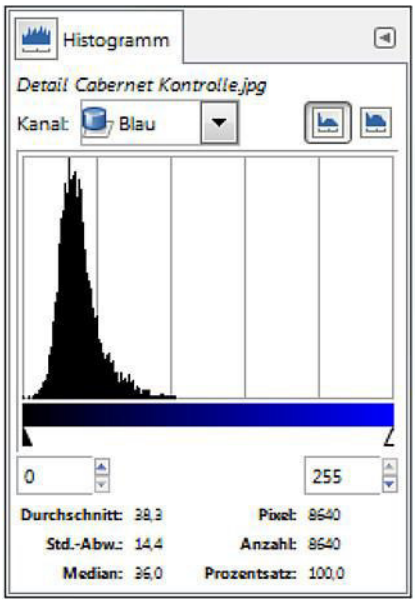
**DPCA - Digital-Photo-Chrom-Analyse: Сорта Cabernet и Solaris**

Числовые фотографии применялись для оценки состояния растений уже в 1999 году [5]. Digital-Photo-Chrom-Analyse (DPCA) представляет собой модифицированный метод анализирования листовой поверхности, при которой образец фотографируется вместе с эталоном белого цвета (Рис.4). При помощи программного продукта строятся 2 гистограммы - для пробы и для эталона - в красном и синем спектре (Рис. 5,6,7,8). Далее вычисляется коэффициент хлорофилла C*/%, который характеризует абсорбцию хлорофиллом света (пассивный хлорофилл). Коэффициент хлорофилла находится в пределах от 20% (малая концентрация хлорофилла) до 80% (максимальная концентрация хлорофилла) [6,7]

Рис. 4: Виноградный лист с эталоном (DPCA) и «клипсой» со светодиодом и с фотодиодом (прибор Флоратест)



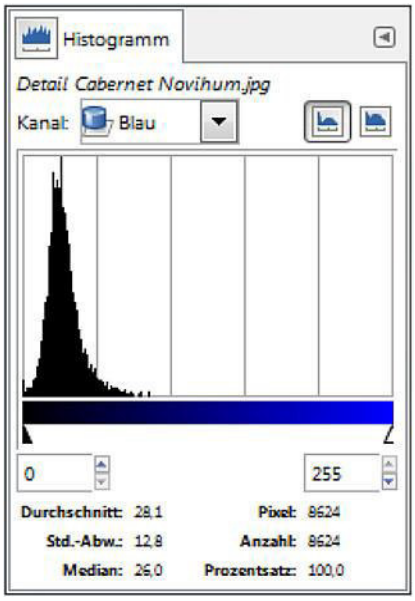




Рис. 5,6,7,8: Гистограммы для красного и синего спектра контрольного образца и образца технологии Novihum

**Измерения CFD - Chlorophyll-Fluoreszenz-Dynamik, Сорт Cabernet**

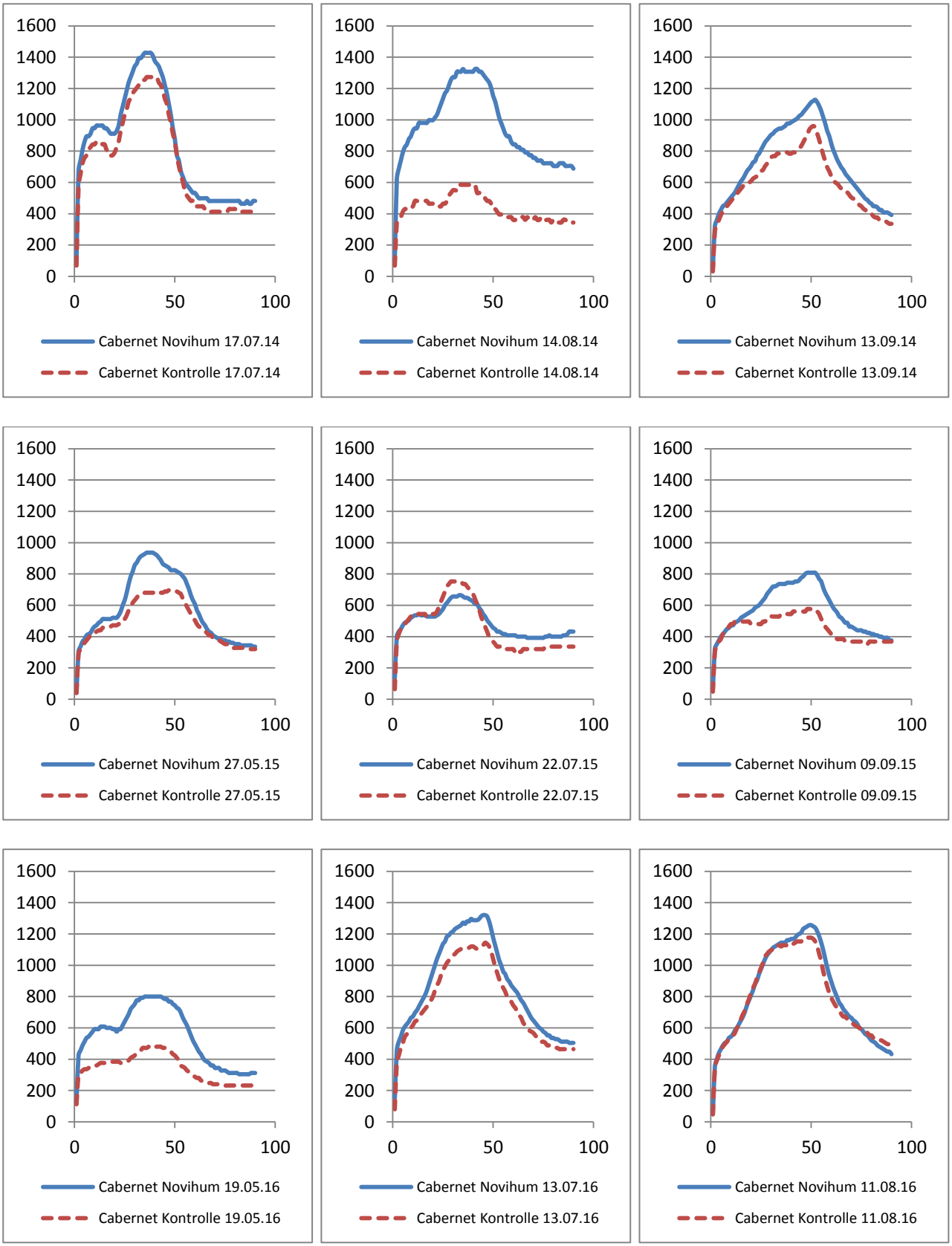



Рис. 2: Динамика флуоресценции хлорофилла CFD, сорт Cabernet, 2014, 2015, 2016

**Измерения CFD - Chlorophyll-Fluoreszenz-Dynamik, Сорт Solaris**

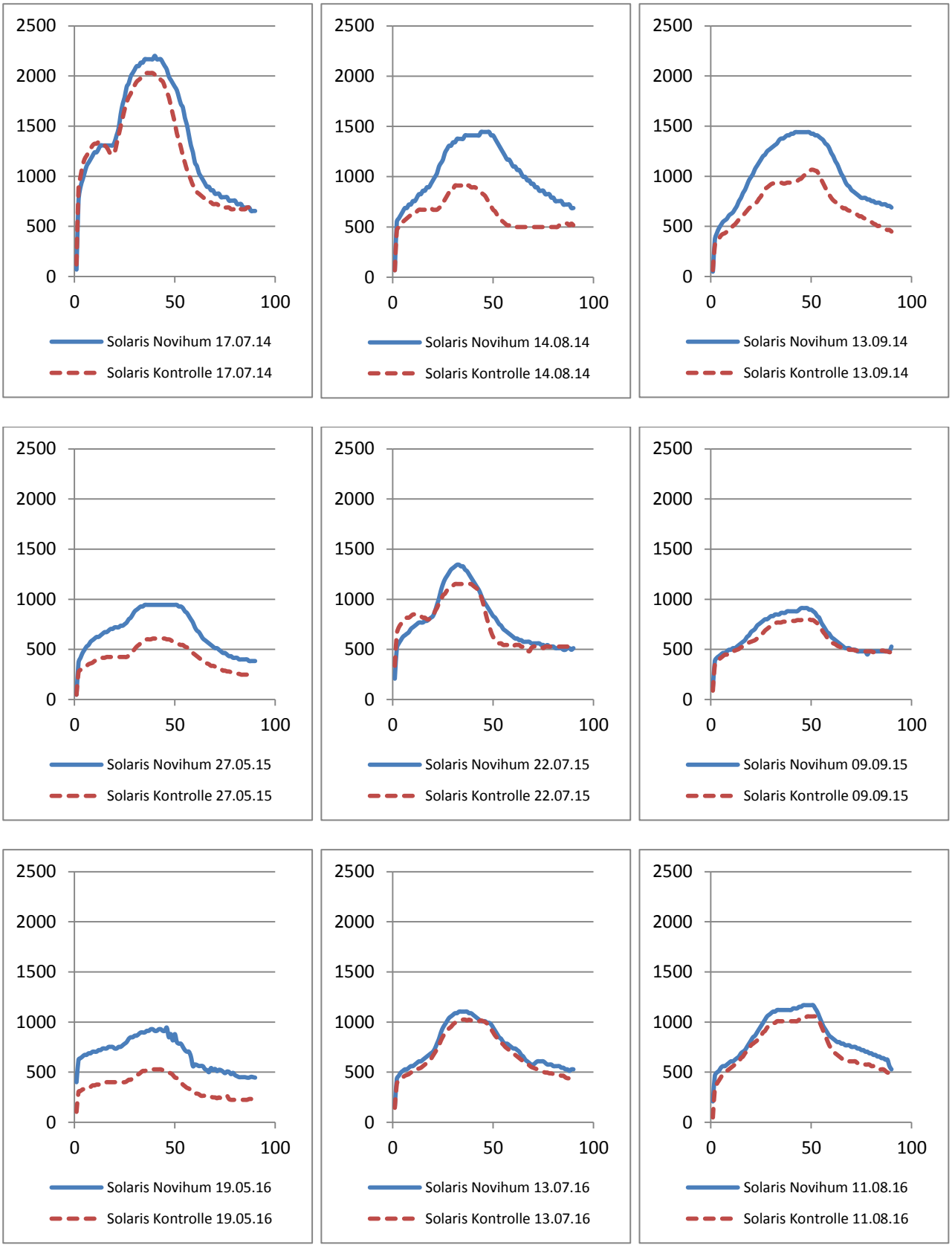



Рис. 3: Динамика флуоресценции хлорофилла CFD, сорт Solaris, 2014, 2015, 2016

**Измерения DPCA - Коэффициенты хлорофилла C*/%**

В 2016 мы начали параллельно измерения по методике DPCA на опытном участке виноградника и получили следующие результаты (Таблица 1)

Таблица 1: DPCA – Коэффициенты хлорофилла:

| Сорт | Коэффициент хлорофилла C*/% | | |
|---|---|---|---|
| Cabernet | 19.05.2016 | 13.07.2016 | 11.08.2016 |
| Контроль | 76,3 | 66,9 | 76,5 |
| Novihum | 78,8 | 74,5 | 77,0 |

| Сорт | Коэффициент хлорофилла C*/% | | |
|---|---|---|---|
| Solaris | 19.05.2016 | 13.07.2016 | 11.08.2016 |
| Контроль | 71,1 | 71,5 | 74,9 |
| Novihum | 77,2 | 79,5 | 79,0 |

**Выводы**

Оптические методы измерений доказали пролонгированное действие препарата Novihum – заметное воздейвие на активность процесса фотосинтеза наблюдалось и в 2015 и в 2016 годах на протяжении всего вегетационного периода. Этот позитивный результат сопровождался более активным развитием саженцев, более высокой активностью процесса фотосинтеза (PHS), более высокой витальностью растений и более высокими урожаями при сокранении качества продукции. Данные обобщены в сводной таблице 2.

Таблица 2: Сводная таблица

| Сорт Cabernet | Длинна побегов 27.05.2015 | PHS | $V_1$ | $V_2$ | Средний урожай 12.10.2015 | | Шкала Эксле 12.10.2015 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | cm | % | % | % | г/растение | Стандартн. откл. | °Oe | Стандартн. откл. |
| Контроль | 18,2 | 43,1 | 55,7 | 67,3 | 400 | 240 | 111,5 | 4,5 |
| Novihum | 25,0 | 47,1 | 55,9 | 71,4 | 1519 | 200 | 108,5 | 7 |

**Литература**


1. Ninnemann H., Nowick W., Sorge R., Einfluss ammoxidierter Braunkohle auf die Chlorophyll-Fluoreszenz-Dynamik - CFD - von Wein , HIT-daRostim 2014, 2014 , c. 245, Moscow, Russia
2. Romanov V., Galelyuka I.,Hrusha V.,Sarakhan Ye, “Biosensor for Express-Diagnostics of Plant States” Proc. 5th Radostim Conf. p. 42, Dnepropetrovsk 2009, Ukraine
3. Nowick Wolfgang, Nowick Henry, Romanov Volodymyr, Practical test of the chlorophyll fluorescence-meter "FloraTest" by the example of a geographic screening of wheat and maize, Proceedings 8th daRostim Conference, p.201, Kiew 2012, Ukraine
4. Карпенко Е.В., Щеглова Н.С., Новик В., Использование биогенных поверхностно-активных веществ для повышения эффективности обработки семенного материала озимой пшеницы - IX конференция daRostim, сборник работ, с. 42, Львов 2013, Украина
5. Adamsen FJ, Pinter PJ, Barnes EM, LaMorte RL, Wall GW, Leavitt SW, Kimball BA. 1999. Measuring wheat senescence with a digital camera. Crop Sci 39: 719-724
6. W. Nowick u.a. “Anbauoptimierung durch DPCA”, SATERRA, Mittweida, 2004
7. W.Nowick, „Digital-Photo-Chrom-Analyse DPCA – Eine Einführung (Teil 1 )“, Radostim-Firmenschrift, Skäßchen, 2006

**Новик В.[1], Семенюк И.В.[2], Карпенко Е.В.[2]**
[1] Частный институт прикладной биотехнологии daRostim, Германия
[2]Отделение физико-химии горючих ископаемых ИнФОВ им. Л. Н. Литвиненко НАН Украины, Украина

# СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ДЕЙСТВИЯ ГУМИНОВЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ СЕЗОННОЙ ОБРАБОТКИ ПОЧВЫ НА ОПЫТНЫХ ПОЛЯХ ГЕРМАНИИ В РАМКАХ ПРОГРАММЫ TANDEM[12/21]

*Аннотация: Исследованы изменения микробиологических показателей почвы и содержания в ней органических веществ под влиянием различных гуминовых препаратов, которые использовались при выращивании сельскохозяйственных культур. Проанализирована зависимость относительного индекса плодородия BSI* от состава использованых гуминовых препаратов.*

*Annotation: Changes of microbial characteristics of soil and the content of organic substances under the influence of various humic preparations, which were used for growing agricultural crops have been investigated. The dependence of the relative fertility index BSI* the composition of the humic preparations has been analyzed.*

За последние десятилетия интенсивного использования почв для выращивания сельскохозяйственных культур в верхних слоях пашни наблюдается уменьшение запаса гумуса – важнейшей составной части органического вещества почвы, основным компонентом которой являются гуминовые кислоты (ГК). Это приводит к обеднению почв и значительному усилению процессов миграции основных питательных элементов в низкие горизонты. Безопасное для окружающей среды земледелие (без ущерба для плодородия), наличие бездефицитного баланса гумуса обусловливает необходимость внесения на поля кроме минеральных удобрений также и органических. Одними из видов органо-минеральных удобрений являются гуматы натрия, калия, или аммония - водорастворимые соли ГК [1]. Благодаря своим биологическим свойствам гуматы более доступны для корневой системы растений, как биополимеры они обеспечивают высокую емкость катионного и анионного обмена, хелатную способность, могут стимулировать рост, обеспечивать азотное и зольное питание растений [2].

В период 2006 (весна) - 2012 (весна) в рамках научных международных проектов Radostim A*B и Future9/12 на площадях (около 110) сельскохозяйственных предприятий в Германии применялась комбинация из фитогормональных и гуминовых препаратов PHC (PhytoHuminCompounds). В период 2006-2008: Agrostimulin/Humisol, в период 2009-2012: Biolan/Lignohumat LH120. Дважды в год весной и осенью отбирались образцы почвы и анализировались на содержание гумуса, численность азотфиксирующих (N) и фосфатмобилизирующих (P) бактерий (рис. 1, 2).

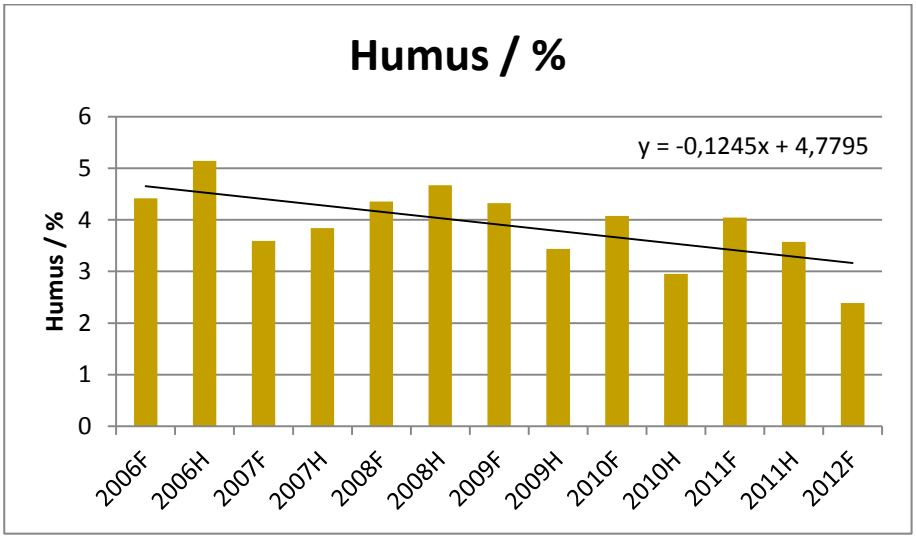



Рис.1. Влияние PHC - PhytoHuminCompounds на содержание гумуса в почве

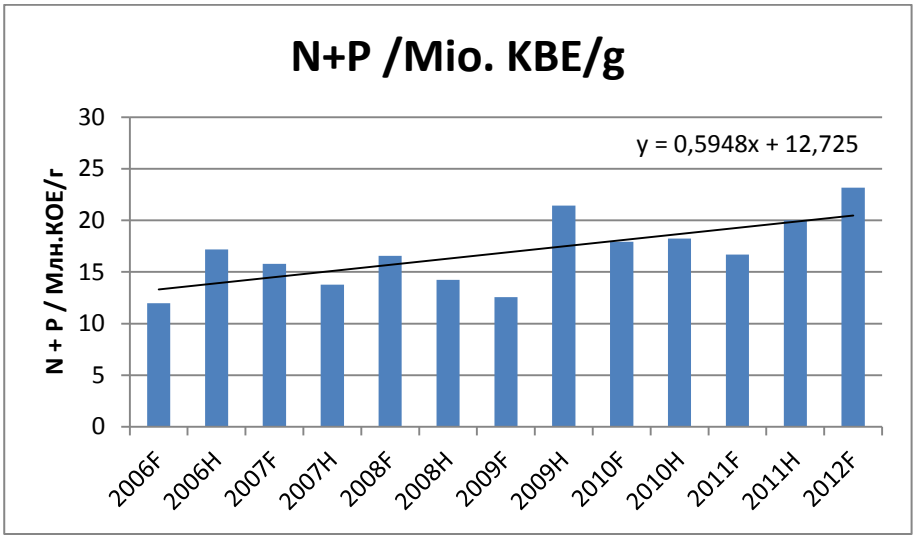



Рис.2. Влияние PHC - PhytoHuminCompounds на численность природных азотфиксирующих (N) и фосфатмобилизирующих (P) бактерий в почве.

Как показывают результаты, численность почвенных азотфиксирующих (N) и фосфатмобилизирующих (P) бактерий увеличивалась, а содержание гумуса в почве снижалось. Эту зависимость можно описать математически:

23/100 * (N+P) / млн КОЕ/г почвы + H / % = 7,8 = const.

Коэффициент (константа) „7,8“ описывает среднее значение плодородия почвы на 110 опытных площадях (относительный индекс плодородия почвы - **b**iologischer **B**oden**i**ndex - BSI*)

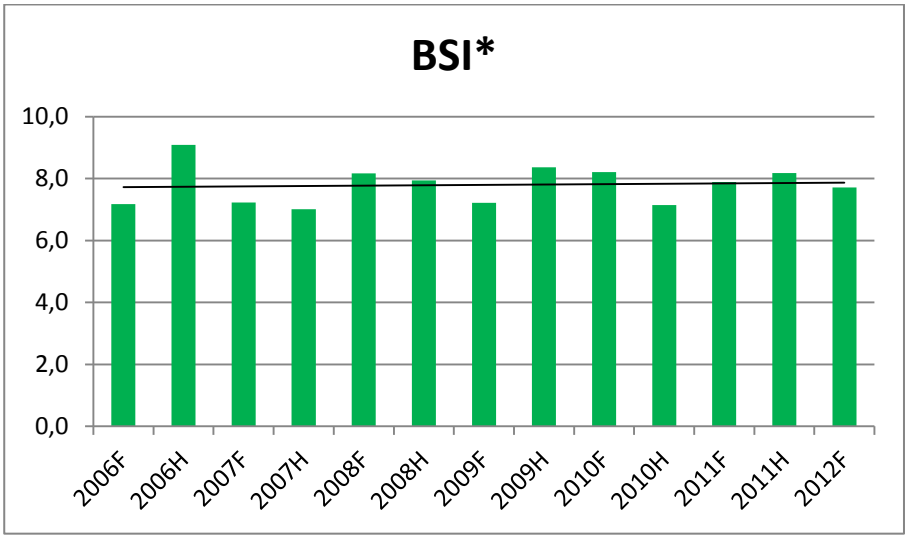



Рис.3. Изменения показателя относительного индекса плодородия почвы BSI под влиянием PHC - PhytoHuminCompounds

В рамках международной долгосрочной программы Tandem [12/21] дополнительно к весенней обработке проводилась осенняя обработка почвы гуминовыми препаратами (0,4 литра/га). Осенью 2012 и 2013 г.г. применялся Lignohumat LH120. Осенью 2014 на половине опытных площадей применялся Humifirst, на другой половине - Lignohumat LH120, осенью 2015 – на половине площадей вносился Hydrohumat, на другой половине - Lignohumat LH120.

Таблица 1. Динамика средних значений численности азотфиксирующих и фосфатмобилизирующих бактерий, содержание гумуса и индекса BSI* на экспериментальных полях при осенней обработке препаратом Lignohumat LH120

| Периоды полевых испытаний | | Препараты | Гумус | Азот-фиксирующие бактерии | Фосфат-мобилизирующие бактерии | Относительный индекс плодородия почвы | Изменения BSI* за зимний период |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | H | N | P | BSI* | DELTA (BSI*) / BSI* |
| | | | % | млн КОЕ/г почвы | млн КОЕ/г почвы | | % |
| 2012 | Осень | Lignohumat | 4,38 | 19,18 | 4,32 | 9,78 | |
| 2013 | Весна | Tandem F | 3,08 | 29,55 | 7,65 | 11,63 | 18,90 |
| 2013 | Осень | Lignohumat | 4,51 | 25,74 | 9,03 | 12,51 | |
| 2014 | Весна | Tandem F | 3,39 | 26,40 | 9,07 | 11,54 | -7,73 |
| 2014 | Осень | Lignohumat | 2,13 | 29,72 | 11,52 | 11,62 | |
| 2015 | Весна | Tandem F | 3,03 | 23,84 | 9,21 | 10,63 | -8,52 |
| 2015 | Осень | Lignohumat | 3,18 | 21,29 | 11,17 | 10,64 | |
| 2016 | Весна | Tandem F | 2,88 | 19,09 | 7,57 | 9,01 | -15,38 |

Таблица 2. Динамика средних значений параметров N, P, H и изменение BSI* на экспериментальных полях при обработке препаратами Lignohumat LH120 и Humifirst осенью 2014

| Периоды полевых испытаний | | Препарат | Humus | Азот-фиксирующие бактерии | Фосфомобилизирующие бактерии | Относительный индекс плодородия почвы | Изменения BSI* за зимний период |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | H | N | P | BSI* | DELTA (BSI*) / BSI* |
| | | | % | млн КОЕ/г почвы | млн КОЕ/г почвы | | % |
| 2014 | Осень | Lignohumat | 2,13 | 29,72 | 11,52 | 11,62 | |
| 2015 | Весна | Tandem F | 3,03 | 23,84 | 9,21 | 10,63 | -8,52 |
| 2014 | Осень | Humifirst | 2,54 | 24,40 | 7,40 | 9,85 | |
| 2015 | Весна | Tandem F | 3,37 | 20,84 | 6,59 | 9,68 | -1,70 |

Таблица 3. Динамика средних значений параметров N, P, H и BSI* на экспериментальных полях при обработке препаратом Lignohumat LH120 и Hydrohumat осенью 2015

| Периоды полевых испытаний | | Препарат | Humus | Азот-фиксирующие бактерии | Фосфат-мобилизирующие бактерии | относительный индекс плодородия почвы | Изменения BSI* за зимний период |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | H | N | P | BSI* | DELTA (BSI*) / BSI* |
| | | | % | млн КОЕ/г почвы | млн КОЕ/г почвы | | % |
| 2015 | Осень | Lignohumat | 3,18 | 21,29 | 11,17 | 10,64 | |
| 2016 | Весна | Tandem F | 2,88 | 19,09 | 7,57 | 9,01 | -15,38 |
| 2015 | Осень | Hydrohumat | 3,02 | 16,61 | 7,32 | 8,52 | |
| 2016 | Весна | Tandem F | 3,02 | 17,44 | 6,07 | 8,43 | -1,10 |

Для трактования возможного влияния химической структуры гуминовых и фульвовых кислот (ГК и ФК), входящих в состав испытанных препаратов, на относительный индекс плодородия почвы из них были выделены гумусовые кислоты и определены кислотные группы в ГК и ФК методом Боэма, который основан на различной кислотности функциональных групп, с использованием кондуктометра ULAB MP 513 Lab Conductiviti Meter.

Образцы исследованных препаратов подкисляли 5%-ным раствором соляной кислоты до pH <2. Выпавшие в осадок ГК отделяли на центрифуге ULAB (Германия) при 5000 об/мин., очистку ГК проводили путем растворения полученного осадка в 0,1 М растворе натрия гидроксида и повторного осаждения 5%-ным раствором соляной кислоты. Полученный повторным центрифугированием осадок промывали на фильтре дистиллированной водой до отрицательной пробы на хлорид-ионы. Очищенный осадок высушивали при температуре 40-50°С до постоянной массы. Для получения очищеных ФК раствор исследуемого образца сначала пропускали через активированный уголь для удаления низкомолекулярных

органических фракций, а потом – через катионит КУ -2-8 (Н форма) для удаления минеральных солей. Гумусовые кислоты последовательно обрабатывали растворами гидрокарбоната натрия $NaHCO_3$ – при этом в реакцию вступают только карбоксильные группы ( -COOH), карбоната натрия $Na_2CO_3$ – при этом реагируют карбоксильные и лактонные группы (-COOH, -CO-O) или гидроксида натрия (NaOH) – в реакцию вступают карбоксильные, лактонные и гидроксильные фенольные группы (-COOH, -CO-O-, Ar-OH).

Таблица 3. Результаты анализа гуминовых препаратов, использованных на опытных полях Германии в рамках программы Tandem[12/21]

| Препараты | Содержание ГК в образце, г/л | Концентрация ионов водорода, pH | Количество кислотных групп, ммоль/г | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Карбоксильные | Гидроксильные | Лактонные | Общее количество |
| Lignohumat LH120 | 152,0* | 7,53 | 2,67 | 1,73 | 0,61 | 5,01 |
| Hydrohumat | 94,3 | 12,6 | 2,91 | 3,04 | 0,91 | 6,86 |
| Humifirst | 162,0 | 12,1 | 3,89 | 2,79 | 0,85 | 7,53 |

* содержание фульвокислот

По результатам определения, осенняя обработка препаратом Lignohumat LH120 ведёт к кратковременному (только в первом году) улучшению показателя BSI*, потом наблюдается устойчивое падение, в то же время замена Lignohumat LH120 на Humifirst или Hydrohumat стабилизирует BSI*, а Hydrohumat проявляет несколько большую эффективность, чем Humifirst.

Гуминовые кислоты благодаря наличию карбоксильных и гидроксильных фенольных групп, накапливают ряд химических элементов за счет сорбции, комплексообразования, ионного обмена, переводя их в доступную для растений форму. А углеводородная и пептидная составляющие ГК являются источником питания для почвенных микроорганизмов.

Фульвокислоты, выделенные из препарата Lignohumat LH120, имеют карбоксильную кислотность 2,67 ммоль/г, и гидроксильную – 1,73 ммоль/г, что несколько меньше, чем у ГК из препаратов Hydrohumat и Humifirst – 2,91 и 3,89 соответственно для карбоксильной кислотности, а для гидроксильной – 3,04 и 2,79. Это может указывать на существующую связь между количеством карбоксильных и гидроксильных групп в гумусових кислотах внесенных препаратов и относительным индексом плодородия BSI*.

Итак, результаты экспериментов имеют как научный, так и практический интерес для прогнозированного использования гуминовых препаратов. По нашему мнению, необходимо продолжить начатые исследования, увеличивая норму внесения препаратов в почву, а также параллельно изучить влияние свободных гуминовых кислот на показатель BSI*.

**Литература**

1. Вахмистров Д.Б., Зверкова О.А., Дебеец С.Ю., Мишустина Н.Е. / Гуминовые кислоты: Связь между поверхностной активностью и стимуляцией роста растений // Докл. АН СССР-1987.-Т.293.-№5.-с.1277-1280
2. Горовая А.И., Орлов Д.С., Щербенко О.В. / Гуминовые вещества. Строение, функции, механизм действия, протекторные свойства, экологическая роль // Киев: Наукова Думка. – 1995 - 302 с.

**Палладіна Т.О., Коваленко Н.О., Білик Ж.І.**
Інститут ботаніки ім. М.Г.Холодного НАН України, Київ, Україна

## ВПЛИВ БІОАКТИВНИХ ПРЕПАРАТІВ МЕТІУР ТА ІВІН НА ФУНКЦІОНУВАННЯ $H^+$-ПОМП ВАКУОЛЯРНОЇ МЕМБРАНИ КЛІТИН КОРЕНІВ ПРОРОСТКІВ КУКУРУДЗИ ЗА УМОВ ЗАСОЛЕННЯ

*It has been found that the feeble $H^+$-pump of vacuolar membrane plays the main role for a plant salinity tolerance on a cell level. $Na^+$ effect is directed primary on the feeble vacuolar $H^+$-pump – V- $H^+$-ATPase where it is realized on a genetic and molecular level. But protective effect of bioactive preparations is realized on a molecular level and therefore supports their safety.*

Засолення грунтів є найсильнішим для рослин стресовим фактором, згубність якого зумовлена переважно присутністю $Na^+$ як головного катіона солей, що засолюють грунти. Його негативна дія проявляється на рівні клітини, які намагаються видалити його з цитоплазми назовні та до вакуолярного простору за допомогою $Na^+/H^+$-антипортерів ,які функціонують в плазматичній та вакуолярній мембранах, використовуючи енергію електрохімічних потенціалів, створених їх $H^+$-помпами. На плазматичній мембрані він створюється $H^+$-АТР-азою Е1-Е2 типа, а на вакуолярній – двома $H^+$-помпами, репрезентованими $H^+$-$PP_н$-азою та слабшою $H^+$-АТР-азою V-типа [1].

**Мета роботи:** Зясувати можливість здійснення солепротекторної дії синтетичних препаратів Метіур (6-метил-2-меркапто-4-гідроксипіримідин, $LD_{50}$ >4000) та Івін (N-оксид-2,6-диметилпіридин, $LD_{50}$ >1300) через їх вплив на функціонування $H^+$-помп у вакуолярній мембрані рослинних клітин.

**Матеріали та методи:** Об'єктом дослідження були проростки кукурудзи (гібрид Десна СВ), (*Zea mays* L.), які вирощували у водній культурі на середовищі Хогленда, що в тижневому віці експонували в присутності 0,1М NaCl протягом 1 та 10 діб. Препарати застосовували шляхом замочування насіння протягом доби в їх $10^{-7}$ М водних розчинах. Фракцію вакуолярної мембрани одержували шляхом центригування у ступінчатому градієнті сахарози за Poole et al., 1984 [2]. Транспортну активність $H^+$-помп визначали флуоресцентним методом з використанням акридин-помаранчевого зонду [3]. Експресію генів оцінювали по накопиченню транскриптів методом напівкількісної зворотно-транскрипційної полімеразної ланцюгової реакції (ЗТ-ПЛР).

**Результати:** У наших дослідах транспортна активність $H^+$-$PP_н$-ази вакуолярної мембрани клітин коренів перевищувала активність V-$H^+$-АТР-ази в 16 разів (табл.1), причому їх співвідношення зменшувалось з часом.

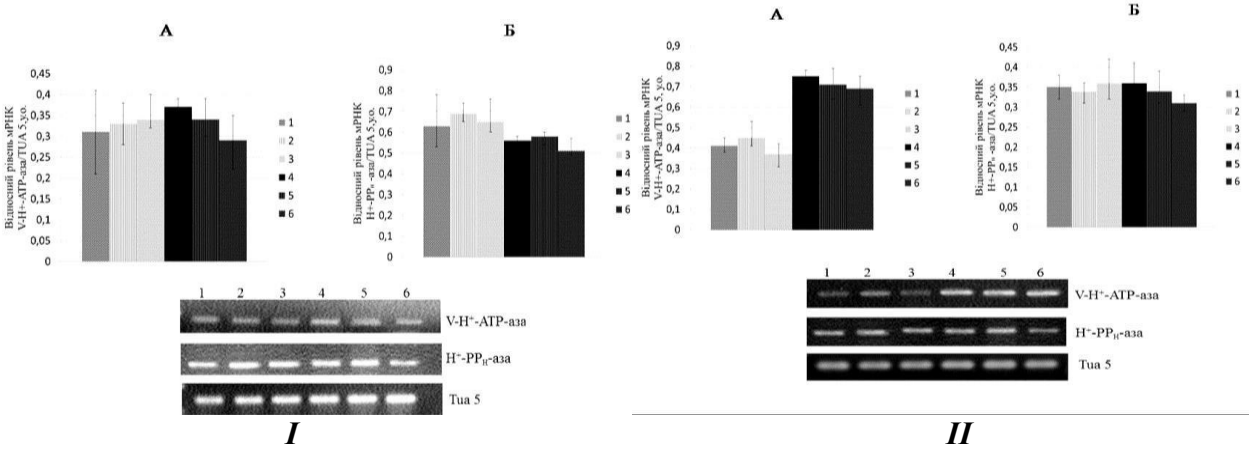
Таблиця 1.Транспортна активність $H^+$-АТР-азна (А) та $H^+$-$PP_н$-азна (Б) вакуолярної мембрани клітин коренів проростків кукурудзи, експонованих в присутності 0,1 М NaCl та за умов дії адаптогенних препаратів.

| Умови проведення експерименту | | Термін експозиції на 0,1 М NaCl | | Термін експозиції на 0,1 М NaCl | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 доба | 10 діб | 1 доба | 10 діб |
| | | Активність Δ%F/мг білка·хв | Активність Δ%F/мг білка·хв | Активність Δ%F/мг білка·хв | Активність Δ%F/мг білка·хв |
| Контроль | | 3,6±1,0 | 7,5±1,0 | 54,9±1,0 | 43,8±1,0 |
| NaCl | - | 8,7±1,5# | 7,6±0,7 | 44,5±0,3# | 39,0±0,5# |
| NaCl | Метіур | 9,2±2,0#* | 10,9±1,0#* | 53,0±0,2* | 45,7±1,0* |
| NaCl | Івін | 8,7±0,9#* | 10,6±0,4#* | 44,5±1,0# | 42,9±2,0 |
| **А** | | | | **Б** | |

*M±m; n=6, p<0,05, #-різниці достовірні відносно контролю без сольової експозиції, *-різниці достовірні відносно експозиції при 0,1 М NaCl*

Присутність у середовищі $Na^+$ посилювала активність другого ензима, репрезентованого вакуолярною $H^+$-АТР-азою на генетичному рівні, шляхом підвищення експресії її гену (рис.1), та на молекулярному рівні (табл.1), засвідчуючи її участь у процесах адаптації рослин до умов засолення. Проведені дослідження продемонстрували наявність кореляції між накопиченням мРНК білків зазначених ензимів та посиленням їх транспортної активності. Стимулюючий ефект біоактивних препаратів на функціонування даних $H^+$-помп проявляється виключно на молекулярному рівні, що засвідчує безпечність цих речовин.

Рисунок 1. Експресії генів V-$H^+$-АТР-ази (**А**) та $H^+$-$PP_н$-ази (**Б**) вакуолярної мембрани в клітинах коренів 8 добових проростків кукурудзи доба (**I**) та 10 діб (**II**) сольової експозиції.




***1**-контроль, **2**-обробка Метіуром, **3**-обробка Івіном, **4**- контроль+ 0,1М NaCl, **5**-Метіур + 0,1М NaCl, **6**-Івін +0,1М NaCl, **М**-маркер молекулярної маси ДНК, **TUA 5**-α тубулін.*

**Література***:*

1. Janicka-Russak M., Kabala K. The role of plasma membrane $H^+$-ATPase in salinity stress of Plants //Progress in Botany – 2015. – 76. – P. 77-93.
2. Poole R.J., Briskin D.P., Kratky Z. and Johnstone R. M. / Plant Physiol., 1984. –74. – P. 594-556.
3. Ward J. and Sze H. / Meth. Plant Cell Biol., 1995. – 42. – P. 1148-1156.

**Павличенко А.К., Сирчін С.О., Юр'єва О.М., Наконечна Л.Т., Курченко І.М.**
Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, м. Київ, Україна

## БІОКОНВЕРСІЯ ПШЕНИЧНОЇ СОЛОМИ КОМПЛЕКСНИМ ФЕРМЕНТНИМ ПРЕПАРАТОМ З *FENNELLIA* SP. 2806

*The possibility of bioconversion of lignocellulosic substrate by enzyme preparation from Fennellia sp. 2806 was established. The aim of this work was to study the ability of the enzyme preparation from Fennellia sp. 2806 to hydrolysis of wheat straw and dynamic process of accumulation of reducing sugars, which can later be used in biotechnology of second-generation bioethanol. The pretreatment of wheat straw by alkali and microwave radiation increases 2 times the amount of reducing sugars and reduces the hydrolysis for 16 hours. The substances are separated during pretreatment of the substrate (mainly lignin) inhibit the enzymatic activity of 20 – 70%.*

Альтернативою застосування харчових продуктів для виробництва біопалива є отримання цукрових сиропів з лігноцелюлозних решток сільськогосподарських рослин, для України це, в першу чергу, пшенична солома та стебла і листя кукурудзи. Раніше нами встановлено наявність целюлазної і ксиланазної активності в культуральних фільтратах *Fennellia* sp**.** 2806, визначено особливості їх індукції та отримано ферментний препарат з целюлолітичною і ксиланазною активністю [5, 6]. **Мета.** Дослідити здатність ферментного препарату з *Fennellia* sp**.** 2806 до гідролізу пшеничної соломи та динаміку процесу накопичення редукуючих цукрів, які в подальшому можуть бути використанні в біотехнологіях отримання біоетанолу другого покоління.

**Матеріали та методи.** *Fennellia* sp**.** 2806 культивували в глибинних умовах з використанням оптимізованого середовища протягом 4 діб. Ферментний препарат з культурального фільтрату гриба отримували методом висолювання $(NH_4)_2SO_4$. Ендо-, екзоклюканазну і ксиланазну активність визначали за редукуючими цукрами [2, 4, 7]. Подрібнену пшеничну солому (необроблену або попередньо оброблену (ПО) 2% розчином NaOH з одночасним мікрохвильовим опроміненням) обробляли розведеним 1:1 ферментним препаратом з розрахунку 100 мг соломи на 1 мл рідини.

**Результати.** Встановлено, що кількість редукуючих речовин після обробки пшеничної соломи ферментним препаратом з *Fennellia* sp**.** 2806 поступово зростала протягом 48 год і перевищувала таку для необробленої препаратом соломи в 7,7 разів. Основний гідроліз відбувався до 16 год і в подальшому кількість редукуючих цукрів зростала на 65% (рис. 1).

Відомо, що застосування попередньої обробки лігноцелюлозного субстрату для відділення лігніну та покращення доступності целюлози для ферментів грибів сприяє пришвидшенню процесу гідролізу та виділенню редукуючих речовин [1, 3]. Так, внаслідок попередньої обробки пшеничної соломи слабко лужним розчином з одночасним мікрохвильовим опроміненням швидкість гідролізу ферментним препаратом з *Fennellia* sp**.** 2806 зростала в 2 рази. Одночасно при збільшенні часу гідролізу до 48 год кількість редукуючих цукрів, порівняно з 16 год, зростала лише на 16% (рис. 1). Речовини, відділенні при попередній обробці пшеничної соломи лугом та мікрохвильовим опроміненням, додавали у розведеннях 1:20 та 1:40 до реакційної суміші при визначенні ендо-, екзоклюканазної і ксиланазної активності, що призводили до її інгібування до 20, 30 та 70% відповідно.

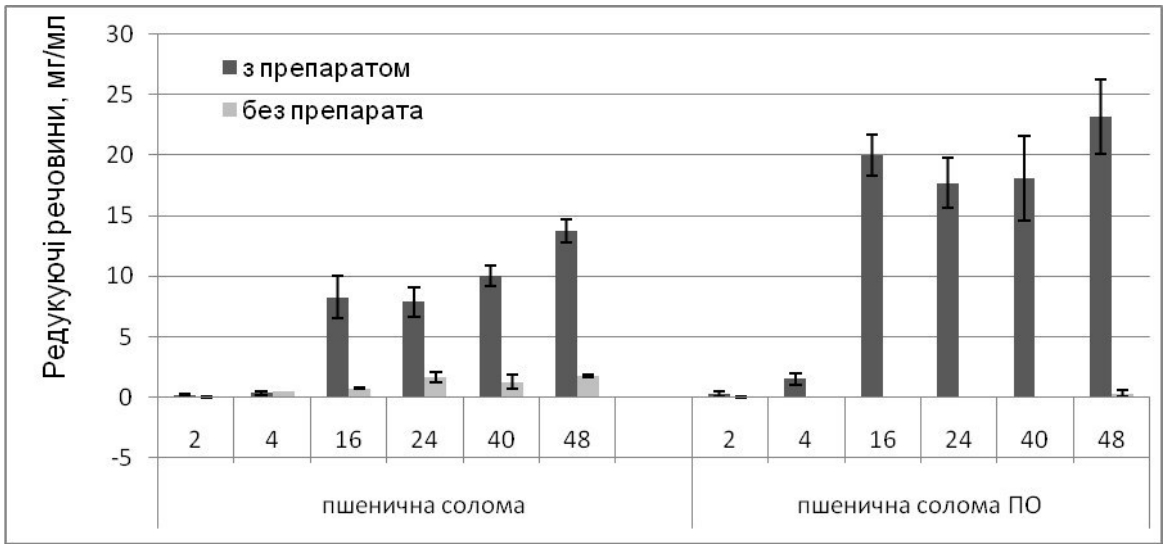



Рис.1. Динаміка накопичення редукуючих речовин при обробці пшеничної соломи ферментним препаратом з *Fennellia* sp**.** 2806.

**Висновки.** Таким чином, комплексний ферментний препарат з *Fennellia* sp**.** 2806 з целюлазною і ксиланазною активністю дозволяє отримати цукрові суміші з лігноцелюлозної рослинної біомаси. Попередня обробка лігноцелюлозної біомаси значно пришвидшує процес гідролізу та збільшує кількість отриманих редукуючих речовин.

**Література**

1. Dashtban M, Schraft H, Qin W. Fungal bioconversion of lignocellulosic residues; opportunities and perspectives. Int J Biol Sci. 2009;5(6):578-95.
2. Ghose TK. Measurement of cellulase activities. Pure & Appl Chem. 1987;59(2):257-68.
3. Limayem A, Ricke SC. Lignocellulosic biomass for bioethanol production: current perspectives, potential issues and future projects. Progress in Energy and Combustion. 2012;38:449-67. doi 10.1016/j.pecs.2012.03.002.
4. Miller GI. Use of dinitrosalycilic acid reagent for determination of reducing sugars. Anal Chem. 1959;31(3):P. 426-8.
5. Syrchin SO, Kharkevych OS, Pavlychenko AK, Yurieva OM, Nakonechna LT, Pasik YuS, Kurchenko IM. [Biosynthesis peculiarities of extracellular cellulases and xylanase by *Fennellia flavipes* M.J. Wiley et E.G. Simmons]. Factors in experimental evolution of organisms. 2014;15:137-40. http://nbuv.gov.ua/UJRN/feeo_2014_15_34. Ukrainian.
6. Syrchin SO, Kharkevych OS, Pavlychenko AK, Yurieva OM, Nakonechna LT, Nekleva YuS, Kurchenko IM. Extracellular cellulolytic complexes production by microscopic fungi. Biotechnologia Acta. 2015;8(5):78-85. doi:10.15407/biotech8.05.078.
7. Zhang YHP, Hong J, Ye X. Cellulase Assays. Biofuels: Methods and Protocols. In: Mielenz JR, editor. Methods in Molecular Biology. Humana Press. 2009;581:213-31. doi 10.1007/978-1-60761-214-8_14.

**Пироговская Г,В.[1], Хмелевский С.С.[1], Новик В.[2]**
[1]РУП «Институт почвоведения и агрохимии», Минск, Беларусь
[2]Частный институт прикладной биотехнологии daRostim, Лихтенштайн, Германия

# ФОТОСИНТЕТИЧЕСКАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ И ПРОДУКТИВНОСТЬ МНОГОЛЕТНИХ ТРАВОСМЕСЕЙ НА ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТЫХ СУГЛИНИСТЫХ ПОЧВАХ БЕЛАРУСИ

*В работе приводятся данные по продуктивности и фотосинтетической активности многолетних злаковых, бобово-злаковых травосмесей и люцерны при возделывании их на дерново-подзолистой легкосуглинистой почве высокого уровня плодородия (Республика Беларусь).*

*The paper presents data on productivity and photosynthetic activity of perennial grass, legume-grass mixtures and lucerne in the cultivation of sod-podzolic sandy loam soil of high fertility levels (Republic of Belarus).*

## Постановка проблемы

Повышение эффективности кормопроизводства в Республике Беларусь невозможно без научно-обоснованного применения минеральных удобрений, оптимизации посевных площадей, расширения посевов бобовых и бобово-злаковых травосмесей, обеспечивающих сбалансированность кормов белком, повышение урожайности и качества многолетних трав. При введении бобового компонента снижается потребность в азотных удобрениях, уменьшаются энергетические затраты на возделывание многолетних трав.

Известно, что содержание хлорофилла является важным показателем при оценке состояния многолетних и газонных трав, и этот показатель может быть использован в качестве диагностического признака при оценке состояния посевов.

Целью наших исследований являлась оценка влияния удобрений на динамику флуорестенции хлорофилла, на Индекс вегетации растений NDVI и – на продуктивность многолетних злаковых, бобово-злаковых травосмесей и люцерны при возделывании их на дерново-подзолистой легкосуглинистой почве (Республика Беларусь).

## Объекты и методика исследований

Исследования по изучению влияния минеральных удобрений (РК, стандартных туков, жидких азотно-калийных и комплексных удобрений с добавками микроэлементов) на активность флуоресценции хлорофилла и продуктивность многолетних травосмесей проводили в период 2015 (травы второго года) – 2016 (третьего года) при возделывании многолетних злаковых, бобово-злаковых травосмесей и люцерны второго и третьего года *на дерново-подзолистой легкосуглинистой почве, развивающейся на мощных лессовидных суглинках* в ОАО «Гастелловское» Минского района Минской области (Республика Беларусь). Общий размер делянки – 27 м$^2$, повторность вариантов – 4-х кратная.

В качестве минеральных удобрений под первый укос применяли: стандартные туки (карбамид, КАС, аммонизированный суперфосфат и хлористый калий), новые формы жидких азотно-калийных удобрений (NK=10-12, NK=12-12) и комплексные удобрения с добавками микроэлементов (NPK с B, Cu, Zn – для злаковых травосмесей и NPK с B, Mo – для бобово-злаковых травосмесей и люцерны).Под второй укос применяли: азотные (карбамид, сульфат аммония), азотно-калийные (NK) и калийные (KCl) удобрения.

Агрохимическая характеристика пахотного слоя почв (0-25 см) перед закладкой опытов с многолетними травами на дерново-подзолистой легкосуглинистой почве была следующая.

pH – 5,13, содержание гумуса – 1,92%, $P_2O_5$ – 471 и $K_2O$ – 314 мг/кг почвы, Ca – 1104, Mg – 92, $N\text{-}NO_3$ – 14,6 мг/кг почвы; содержание B – 0,68 мг/кг почвы, подвижной Cu – 2,8, Zn – 3,3 и Mn – 2,7 мг/кг почвы.

Состав травосмеси ( 2014-2016 гг.): *злаковая травосмесь:* тимофеевка луговая Волна (4 кг, или 8,0 млн/га), овсяница луговая Зорка (6 кг, или 3,0 млн/га), фестулолиум морфотипа овсяницы Пуня (6,0 кг, или 2,0 млн/га), вес смеси – 16 кг (13 млн/га); *бобово-злаковая* – клевер луговой Янтарный (3 кг, или 1,7 млн/га), люцерна Будучыня (8 кг, или 4,0 млн/га), овсяница луговая Зорка (6 кг, или 3,0 млн/га), фестулолиум морфотипа овсяницы Пуня (10,0 кг, или 3,3 млн/га), вес смеси – 27 кг (12 млн/га). *Люцерна Будучыня* высевались в количестве 8-10 кг/га или 4-5 млн. всхожих семян. Покровная культура в опытах (2014 г.) – райграс однолетний Изорский с нормой высева 10,0 млн. всхожих семян на гектар.

Для оценки процесса фотосинтеза на многолетних травосмесях мы применяли три–оптических метода: 1. измерение динамики флуоресценции хлорофилла **CFD (Chlorophyll-Fluoreszenz-Dynamik)** и 2.определение **Индекса вегетации растений NDVI.**

### 1. DPCA – коэффициент хлорофилла C*/%

В конце 90-х готов для оценки состояния растений стали применяться дигитальные фотоаппараты [1]. DPCA - Digital-Photo-Chrom-Analyse один из способов анализа дигитальной фотографии, при котором листовая поверхность анализируемого листа фотографируется вместе с эталоном [2, 3].

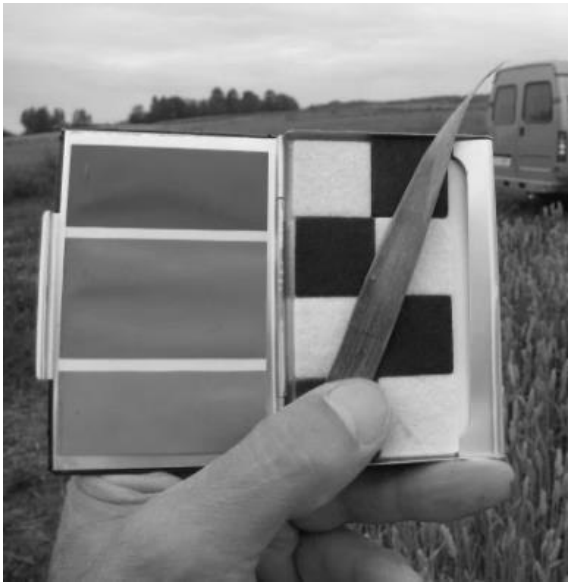


*Рис. 1: Исследуемый образец и эталон*

С помощью специального программного продукта строятся гистограммы в красном и синем спектре для листа и эталона отдельно. На основании данных гистограмм вычисляется коэффициент хлорофилла C*/%, который описывает абсорбцию света через хлорофилл и пропорционален концентрации хлорофилла (пассивный хлорофилл).

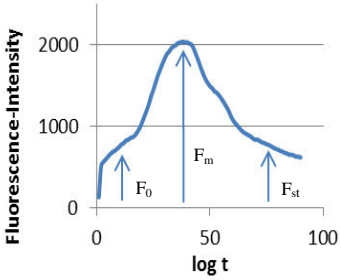
Показатель коэффициента хлорофилла C*/% менее 20% говорит о малом его количестве, а более 80% – о максимальной концентрации.

Для исследований использовалась камера последнего поколения CanonPowerShotSX10

### 2. Флоратест – Эффект Каутского - параметры Каутского: $K_1$, $K_2$, $K_3$

Если на искуственно затемнённую в течении некоторого времени листовую поверхность (состояние сна) подать свет, то процесс фотозинтеза потребует некоторого времени для переключения в активное состояние (активный хлорофилл). В этот период переключения не использованный свет отражается, т.н. флуоресценция хлорофилла – Эффект Каутского.Интенсивность флуоросценции имеет определённую динамику (CFD-Chlorophyll-Fluoreszenz-Dynamik) [4,5].

Сравнение графиков исследуемых образцов с эталонной кривой позволяет дополнительно рассчитать Потенциал фотосинтеза PHS и показатели витальности растений $V_1$и $V_2$ [6,7].




Для исследований применялся прибор **Floratest**, который отображает кривую протекания процесса и вычисляет параметры Каутского [4]:

$K_1 = (F_m - F_0) / F_m$ ; $K_2 = (F_m - F_{st}) / F_m$ ; $K_3 = F_{st} / F_m$.

*Рис. 2: CFD- Chlorophyll-Fluoreszenz-Dynamik – Динамика флуоресценции хлорофилла*

### 3. GreenSeeker – Индекс вегетации растений: NDVI

Зелёные растения рефлектируют малую часть красного светового спектра (абсорбция хлорофилла) и значительную часть инфракрасного света (биомасса). Отношение этих двух показателей $NDVI = (R_{NIR}-R_R)/(R_{NIR}+R_R)$ есть прямой показатель густоты листьев (растений, посевов). Чем гуще и зеленее растения, тем больше показатель NDVI. Для исследований применялся прибор „GreenSeeker“ [8].


*Рис. 3: Прибор GreenSeeker*

Показатели NDVI лежат в пределах 0,00 – 0,99.

| NDVI-показатель | 0 - 0,5 | 0,5 - 0,99 |
|---|---|---|
| Состояние растений | слабые | сильные |
| Виталитет | нарушен | оптимальный |

Отбор растительных образцов и определение в них вышеуказанных показателей проводились в 2015 г. (05.08.2015 г. – после уборки второго укоса трав) и 2016 г. – после уборки первого укоса травосмесей (09.06.2016 г.) и перед уборкой второго укоса многолетних травосмесей (06.07.2016 г.).

### Результаты исследований

*На дерново-подзолистой легкосуглинистой почве* в условиях 2014 г. (ГТК = 1,73) получено на травах первого года по три укоса многолетних злаковых, бобово-злаковых травосмесей и люцерны, в 2015 г. (ГТК = 0,65) – два укоса злаковых травосмесей и три укоса – бобово-злаковых травосмесей и люцерны. За 2016 г. приводим урожайность зеленой массы за первый и второй укосы.

Урожайность зеленой массы ***злаковой травосмеси*** (80% влажности) в среднем за 2014-2016 гг. составила на контроле без удобрений – 147 ц/га, в фоновом варианте (NP) – 171, на смеси стандартных туков – 279, жидких азотно-калийных удобрениях – 302, комплексных с B, Cu, Zn – 363 ц/га. В среднем за три года прибавка зеленой массы злаковой травосмеси по сравнению с фоном при использовании стандартных туков (вар. 3) составила 108 ц/га, жидких азотно-калийных удобрений – 131 ц/га (вар. 7), NPK с B, Cu, Zn – 192 ц/га (вар. 9). Прибавка от применения жидких азотно-калийных удобрений по сравнению со стандартными туками составила 23 ц/га, Максимальная прибавка зеленой массы (84 ц/га) по сравнению со стандартными туками получена в варианте с использованием под первые укосы травосмесей NPK с B, Cu, Zn (таблица 1).

**Таблица 1.Продуктивность зеленой массы злаковой и бобово-злаковой травосмеси, люцерны при возделывании на дерново-подзолистой легкосуглинистой почве, 2014-16 гг.**

| Варианты | Урожайность (80% влажности), ц/га | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 2014 г. | 2015 г. | 2016 г. | | в среднем за 3 года | прибавка к фону |
| | | | первый укос | второй укос | | |
| ***Злаковая травосмесь (2014 г. – получено 2 укоса, 2015 г. – 3 укоса, 2016 г. – 2 укоса трав)*** | | | | | | |
| 1. Контроль без удобрений | 167 | 121 | 109 | 44 | **147** | – |
| 2. $N_{10}P_{38}$ (фон) | 188 | 153 | 121 | 50 | **171** | – |
| 3. $N_{45}P_{38}K_{54}$ (под первый укос) + $N_{45}K_{54}$ (под второй укос) – стандартные туки | 307 | 291 | 155 | 83 | **279** | 108 |
| 7. $N_{45}K_{54}$ (жидкое$N_{10}K_{12}$) + $P_{38}$ (под первый укос) + $N_{45}K_{54}$ (жидкое $N_{10}K_{12}$) – под второй укос (карбамид, хлористый калий) | 320 | 308 | 179 | 99 | **302** | 131 |
| 9. $N_{45}P_{38}K_{54}$ с B, Cu, Zn (под первый укос) + $N_{45}K_{54}$ – под второй укос (карбамид, хлористый калий) | 389 | 395 | 175 | 129 | **363** | 192 |
| $НСР_{05}$ | 9,1 | 8,0 | 10,3 | 5,3 | 8,4 | – |
| ***Бобово-злаковая травосмесь (2014 г. – получено 3 укоса, 2015 г. – 3 укоса, 2016 г. – 2 укоса трав)*** | | | | | | |
| 1. Контроль без удобрений | 199 | 411 | 203 | 117 | **310** | – |
| 2. $N_{12}P_{47}$ (фон) | 279 | 541 | 254 | 131 | **402** | – |
| 3. $N_{25}P_{47}K_{30}$ (под первый укос) + $N_{25}K_{30}$ (под второй укос) – стандартные туки | 327 | 620 | 294 | 150 | **464** | 62 |
| 7. $N_{25}K_{30}$ (жидкое $N_{10}K_{12}$) + $P_{47}$ (под первый укос) + $N_{25}K_{30}$ (жидкое $N_{10}K_{12}$) – под второй укос | 339 | 670 | 351 | 157 | **506** | 104 |
| 9. $N_{25}P_{47}K_{30}$ с B и Mo (под первый укос) + $N_{25}K_{30}$ – под второй укос (карбамид, хлористый калий) | 396 | 646 | 348 | 160 | **517** | 115 |
| $НСР_{05}$ | 9,0 | 14,3 | 17,4 | 8,2 | 12,8 | |
| ***Люцерна (в 2014 и 2015 гг. получено по 3 укоса, 2016 г. – 2 укоса)*** | | | | | | |
| 1. Контроль без удобрений | 130 | 365 | 286 | 163 | **315** | – |
| 2. $N_{13}P_{50}$ (фон) | 162 | 489 | 332 | 188 | **390** | – |
| 4. $N_{25}P_{50}K_{107}$ с B и Mo (под первый укос) + $N_{15}K_{18}$ (под второй укос – карбамид, хлористый калий) | 170 | 580 | 373 | 229 | **451** | 61 |
| 6. $N_{25}P_{50}K_{107}$ с B и Mo (под первый укос) + $N_{15}K_{18}$ (жидкие азотно-калийные, $N_{10}K_{12}$) – под второй укос | 187 | 635 | 364 | 269 | **485** | 95 |
| $НСР_{05}$ | 4,9 | 13,4 | 22,4 | 11,3 | 14,4 | |

Динамика флуоресценции хлорофилла (CFD) и Индекс вегетации растений (NDVI) на изучаемых культурах показаны на рис. 4-12.

Измерения проводились прибором **Floratest** и **GreenSeeker**.

Место: ОАО «Гастелловское» МинскогорайонаМинскойобласти

**Злаковые травосмеси**

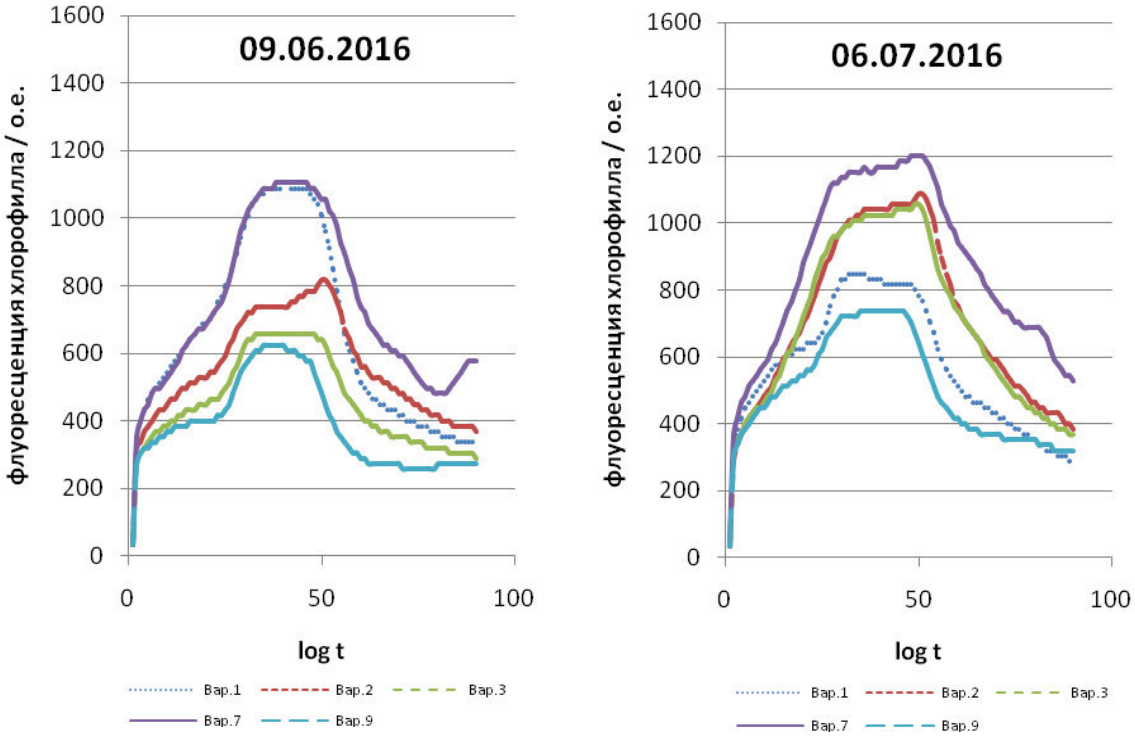



Рис. 4, 5: Культура злаковая травосмесь третьего года.

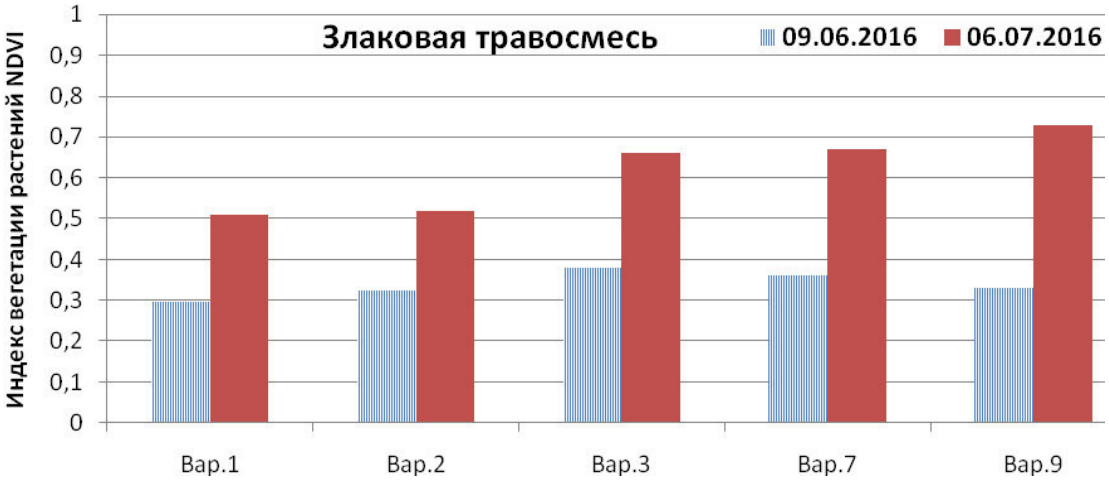



Рис. 6: Культура злаковая травосмесь третьего года.
Измерения проводились после уборки 1-го укоса – 09.06.2016 и перед уборкой 2-го укоса – 06.07.2016.
Варианты удобрений:
Вар.1: Контроль
Вар.2: $N_{10}P_{38}$ – фон
Вар.3: $N_{45}P_{38}K_{54}$(под первый укос) + $N_{45}K_{54}$ (под второй укос) – стандартные удобрения
Вар.7: $N_{45}K_{54}$ (жидкое$N_{10}K_{12}$) + $P_{38}$ (под первый укос) + $N_{45}K_{54}$ (жидкое $N_{10}K_{12}$) – под второй укос стандартные удобрения
Вар.9: $N_{45}P_{38}K_{54}$ с B, Cu, Zn (под первый укос) + $N_{45}K_{54}$ (под второй укос, стандартн.удобрения)

**Бобово-злаковые травосмеси (клевер)**

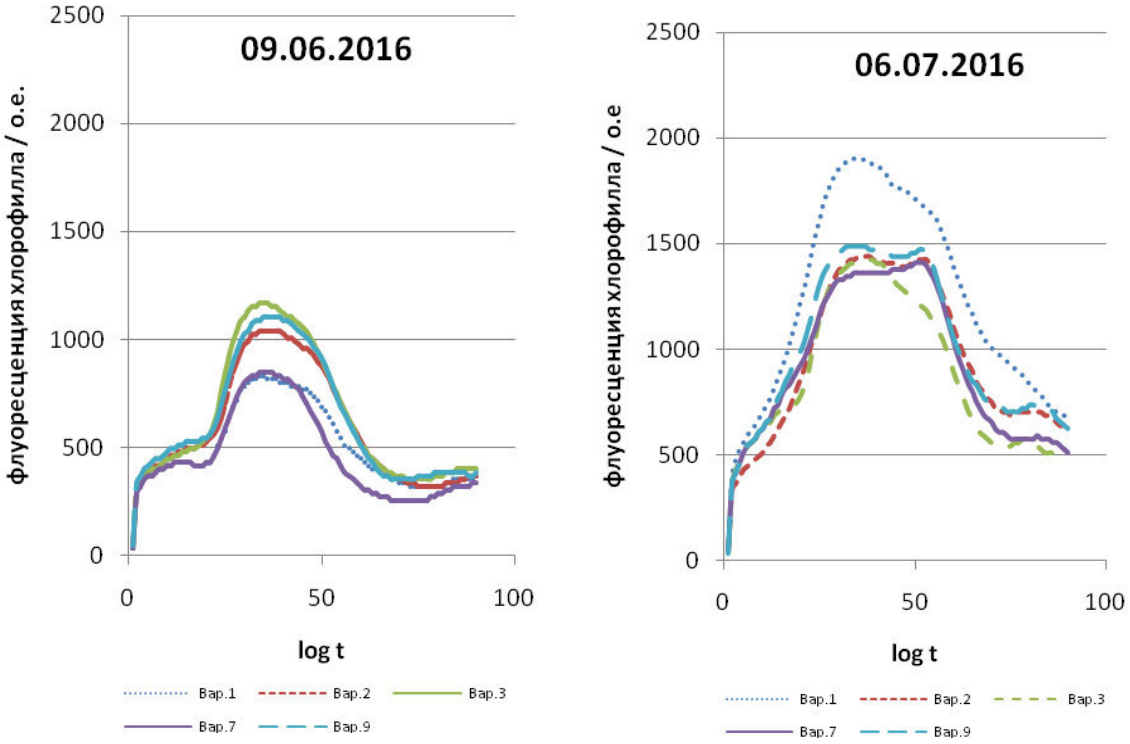



Рис. 7, 8: Культура-бобово-злаковые травосмеси (клевер)

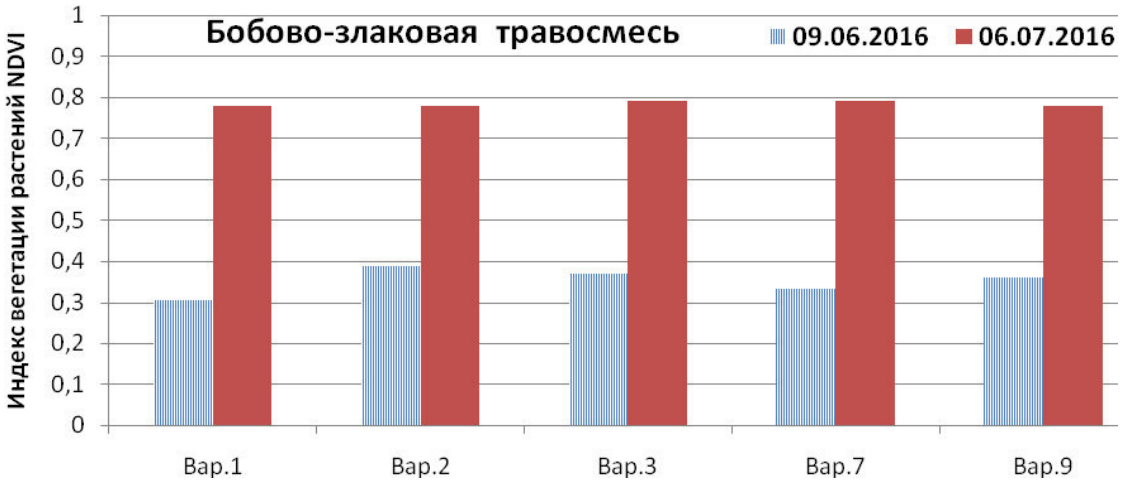



Рис. 9 : Культура-бобово-злаковые травосмеси (клевер)

Измерения проводились после уборки 1-го укоса – 09.06.2016 и перед уборкой 2-го укоса– 06.07.2016;

Варианты удобрений:

Вар.1: Контроль без удобрений

Вар.2: $N_{12}P_{47}$ – фон

Вар.3: $N_{25}P_{47}K_{30}$ (под первый укос) + $N_{25}K_{30}$ (под второй укос) – стандартные удобрения

Вар.7: $N_{25}K_{30}$ (жидкое $N_{10}K_{12}$) + $P_{47}$ (под первый укос) + $N_{25}K_{30}$ (жидкое $N_{10}K_{12}$) – под второй укосстандартные удобрения

Вар.9: $N_{25}P_{47}K_{30}$ с B и Mo (под первый укос) + $N_{25}K_{30}$ (под второй укос, стандартные)

**Люцерна**

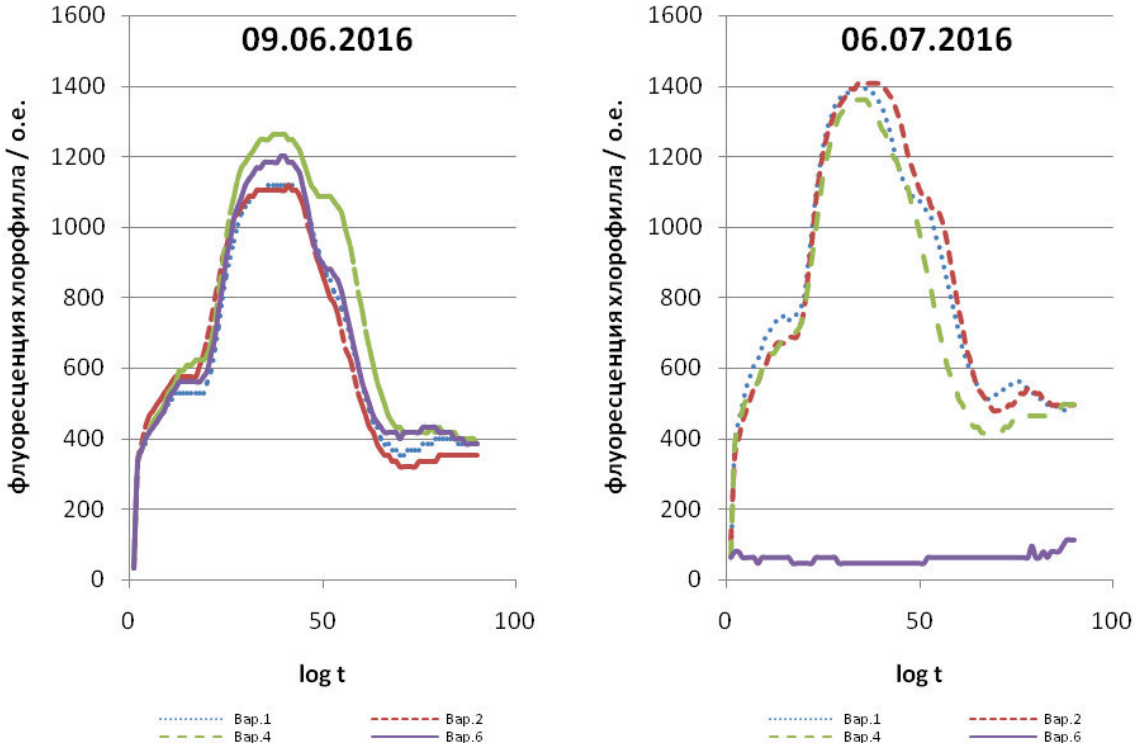



Рис. 10, 11:Культура – Люцерна

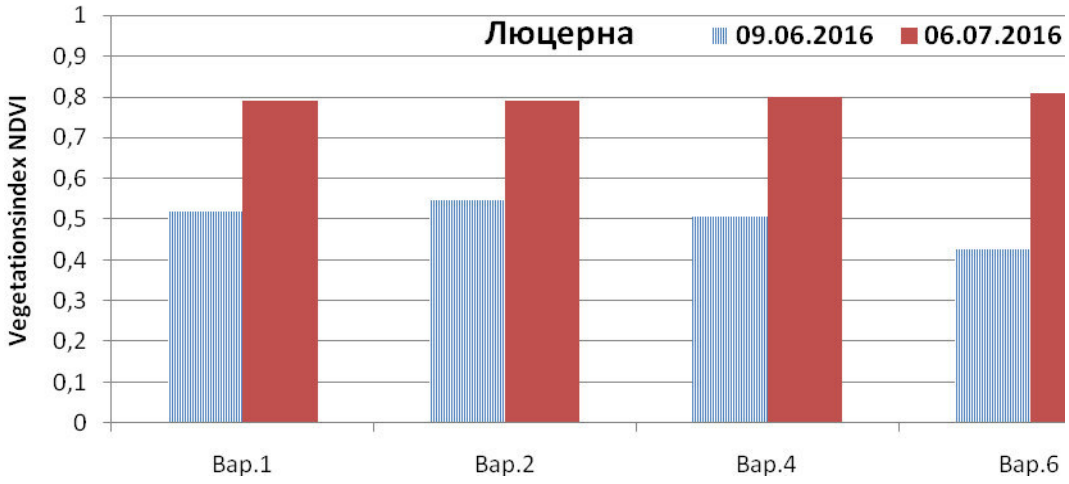



Рис.12: Культура – Люцерна

Измерения проводились после уборки 1-го укоса – 09.06.2016 и перед уборкой 2-го укоса – 06.07.2016;

***Примечание:*** Измерения CFD проводились непосредственно на поле. Только проба варианта 6 измерялась через 45 мин после сбора материала.

Варианты удобрений:

Вар.1: Контроль без удобрений

Вар.2:$N_{13}P_{50}$ – фон

Вар.4:$N_{25}P_{50}K_{107}$ с B и Mo (под первый укос) + $N_{15}K_{18}$ (под второй укос) – стандартн. удобрения

Вар.6:$N_{25}P_{50}K_{107}$ сB и Mo (под первый укос) + $N_{15}K_{18}$ (жидкие азотно-калийные, ($N_{10}K_{12}$) – под второй укос)

На рисунке 6 наглядно видно, что после уборки 1-го укоса ***многолетних злаковых травосмесей*** индекс вегетации растений NDVI (09.06.2016 г.) находился в пределах 0,3-0,4, что свидетельствовало о слабом состоянии растений. Перед уборкой второго укоса (06.07.2016 г.) этот показатель значительно выше (0,5-0,74) и растения находились в хорошем состоянии. При этом максимальный показатель NDVI был в варианте с комплексным $N_{45}P_{38}K_{54}$ с B, Cu, Zn (под первый укос) + $N_{45}K_{54}$ – под второй укос (карбамид, хлористый калий), что согласуется и с продуктивностью трав в этом варианте.

Урожайность зеленой массы ***бобово-злаковых травосмесей*** в среднем за три года составила на контроле 310 ц/га, в фоновом варианте была на уровне 402, смеси стандартных удобрений – 464, жидких азотно-калийных удобрений – 506 ц/га, комплексных NPK с B и Mo – 517 ц/га. Следует отметить, что урожайность зеленой массы бобово-злаковых травосмесей была в 1,4-2,4 раза (в зависимости от вариантов опыта) выше, чем злаковых травосмесей. Прибавка зеленой массы бобово-злаковой травосмеси к фону при использовании стандартных туков составила 62 ц/га, жидких азотно-калийных удобрений – 104 ц/га, NPK с B, Mo – 115 ц/га. Эффективность жидких азотно-калийных удобрений была примерно на уровне комплексных удобрений (506 и 517 ц/га, соответственно), с прибавкой к стандартным тукам в размере 42-53 ц/га (таблица 1).

После уборки 1-го укоса ***многолетних бобово-злаковых травосмесей*** индекс вегетации растений NDVI (09.06.2016 г.) находился в пределах 0,3-0,4, т.е. на уровне злаковой травосмеси. Перед уборкой второго укоса (06.07.2016 г.) этот показатель был на клевере более высоким (0,7-0,8) во всех вариантах, чем на злаковой травосмеси (рис. 9).

Урожайность зеленой массы ***люцерны*** во второй и третий год была высокой и в среднем за три года исследований составила на контроле без удобрений – 315 ц/га, в фоновом варианте – 390, со стандартными туками – 451, с новыми формами комплексных удобрений с B и Mo – 485 ц/га. Прибавка от применения стандартных и новых форм комплексных удобрений с микроэлементами составила 61-95 ц/га по сравнению с фоном, в том числе от новых форм комплексных удобрений 34 ц/га.

Показатель флуоресценсии-хлорофилла на люцерне после уборки первого укоса был близок к клеверу, а перед уборкой второго укоса – несколько ниже клевера (рис. 7,8 и 10,11). Что касается показателя NDVI, то на люцерне он был после первого укоса на уровне 0,4-0,5 и, преимущественно, выше на контроле без удобрений и фоновом варианте. Перед уборкой второго укоса этот показатель составил (0,7-0,8), т.е. был на уровне клевера (рис. 9 и 12).

**Заключение**

Выше описанные методики для определения активности процесса фотосинтеза дают возможность описать динамику развития растений и влияние различных вариантов удобрения.

В период после 1-го укоса – 09.06.2016 и перед 2-ым укосом 06.07.2016 индекс вегетации растений NDVI показывает более устойчивую динамику и даёт более стабильный результат, т.к. определяется из большего числа растений (большая площадь).

Показатель CFD более чуствительный и описывает состояние отдельного растения, которое может быть на момент измерения находиться в стрессовой ситуации (вода, температура) и не так сильно зависит от длительного обеспечения растения элементами питания. Комбинация этих двух методик позволяет в перспективе определить эталонные показатели, при помощи которых можно прогнозировать продуктивность растений.

Приведенные данные свидетельствуют о высокой продуктивности дерново-подзолистых суглинистых почв при возделывании многолетних злаковых, бобово-злаковых травосмесей и люцерны. Продуктивность многолетних травосмесей на дерново-подзолистых рыхлосупесчаных почвах значительно ниже и напрямую зависит от погодных условий, что при неблагоприятных погодных условиях (в слабозасушливые и засушливые годы) не позволяет получать по два-три укоса многолетних травосмесей.

**Таблица 2. Активность фотосинтеза – сводная таблица**

| | **Индекс вегетации растений (NDVI)** | | | **Максимум флуоресценции хлорофилла** | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | **Злаковая травы** | | | **Злаковая травы** | | |
| | 09.06.2016 | 06.07.2016 | Динамика % | 09.06.2016 | 06.07.2016 | Динамика% |
| Вар.1 | 0,295 | 0,51 | 73 | 1104 | 848 | -23 |
| Вар.2 | 0,325 | 0,52 | 60 | 784 | 1088 | 39 |
| Вар.3 | 0,38 | 0,66 | 74 | 656 | 1056 | 61 |
| Вар.7 | 0,36 | 0,67 | 86 | 1104 | 1200 | 9 |
| Вар.9 | 0,33 | 0,73 | 121 | 624 | 736 | 18 |
| | **Бобово-злаковая травосмесь** | | | **Бобово-злаковая травосмесь** | | |
| | 09.06.2016 | 06.07.2016 | Динамика % | 09.06.2016 | 06.07.2016 | Динамика % |
| Вар.1 | 0,305 | 0,78 | 156 | 832 | 1904 | 129 |
| Вар.2 | 0,388 | 0,78 | 101 | 1040 | 1440 | 38 |
| Вар.3 | 0,368 | 0,79 | 115 | 1168 | 1424 | 22 |
| Вар.7 | 0,333 | 0,79 | 137 | 848 | 1408 | 66 |
| Вар.9 | 0,36 | 0,78 | 117 | 1104 | 1472 | 33 |
| | **Люцерна** | | | **Люцерна** | | |
| | 09.06.2016 | 06.07.2016 | Динамика % | 09.06.2016 | 06.07.2016 | Динамика % |
| Вар.1 | 0,52 | 0,79 | 52 | 1120 | 1392 | 24 |
| Вар.2 | 0,545 | 0,79 | 45 | 1104 | 1408 | 28 |
| Вар.4 | 0,505 | 0,8 | 58 | 1248 | 1360 | 9 |
| Вар.6 | 0,425 | 0,81 | 91 | 1200 | 1387 | 16 |

**Литература**


1. AdamsenFJ, PinterPJ, BarnesEM, LaMorteRL, WallGW, LeavittSW, KimballBA. 1999. Measuring wheat senescence with a digital camera. CropSci39: 719-724
2. W. Nowick u.a., Anbauoptimierung durch DPCA (Оптимированиевыращиванияс/хпродукциипосредствомметодики DPCA), SATERRA, Mittweida, Германия, 2004
3. W.Nowick, Digital-Photo-Chrom-AnalyseDPCA – Введение (Часть 1), Radostim-проспект, Скэсхен, 2006
4. RomanovV.,GalelyukaI.,HrushaV.,SarakhanYe, BiosensorforExpress-DiagnosticsofPlantStates, VконференцияRadostim ,с. 153, Днепропетровск,Украина, 2009
5. Nowick Wolfgang, Nowick Henry, Romanov Volodymyr, “Practical test of the chlorophyll fluorescence-meter "FloraTest"by the example of a geographic screening of wheat and maize”,VIIIконференция daRostim , Материалы конференции, с. 201, Kiew, Ukraine, 2012
6. Карпенко Е.В., Щеглова Н.С., Новик В., Использование биогенных поверхностно-активных веществ для повышения эффективности обработки семенного материала озимой пшеницы, IX конференцияdaRostim, с. 41, Lviv 2013, Ukraine
7. NinnemannH., NowickW., SorgeR., InfluenceofAmmoxidizedLigniteonCFD (ChlorophyllFlourescenceDynamic) ofVine, Хконференция daRostim, с. 245, Москва, Россия, 2014

**Плотникова Т. В.[1], Саломатин В. А.[1], Хуршкайнен Т. В.[2], Кучин А. В.[2]**
[1]Всероссийский НИИ табака, махорки и табачных изделий, Краснодар, Россия
[2]Институт химии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия

## ФОРМИРОВАНИЕ ПРОДУКТИВНОСТИ ТАБАКА ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ПРИРОДНОГО СТИМУЛЯТОРА РОСТА ВЭРВА

*It has been found that soaking of seeds before sowing and spraying the seedlings with 0,01 % water solution of growth stimulator in stages of cotyledon and ready for transplanting leads to improving of seedling quality, increasing of tobacco growth rate, leaf area and finally tobacco productivity by 3,5 c/ha (10%).*

Возделывание табака – трудоемкий технологический процесс, начинающийся с выращивания рассады – наиболее ответственного периода всей технологии, важной составляющей получения высоких урожаев качественного табака. В основном выгонка растений проходит в необогреваемых парниках, где на фоне перепадов температур растения страдают от корневых и стеблевых гнилей, предотвратить развитие которых возможно только при использовании химических фунгицидов. Однако, практически все работы в парниках основываются на ручном труде, поэтому акцент при выборе препаратов, должен быть направлен не только на стимуляцию роста растений и активацию сопротивляемости к патогенным и погодным стрессам, но и на безопасность для человека. Кроме того, стратегической задачей последних лет является получение свободного от пестицидных остатков табачного сырья на фоне снижения экологического воздействия на окружающую среду. В этих условиях целью наших исследований является подбор препаратов, обладающих вышеуказанными требованиями, к которым можно отнести экологически безопасный стимулятор роста Вэрва. Данный препарат получен из возобновляемого растительного сырья при переработке хвои пихты способом эмульсионной экстракции [1].

Влияние регулятора на посевные качества семян табака изучали путём их замачивания в различных концентрациях: 0,5 – 0,005%, 0,25 – 0,025% и 0,1 – 0,0001% при экспозиции – 3 и 12 часов [2]. Перед посевом в парники семена обрабатывали стимулятором в водном растворе препарата в концентрациях 0,01; 0,025% и 0,05%, показавших наилучшую эффективность в лабораторном опыте. Высевали проклюнувшиеся семенами из расчёта 0,3 г/м$^2$. Площадь делянки в парнике 1 м$^2$, повторность – четырёхкратная. Опыт в парнике закладывали на длительно несменяемой (в течение 8 - 9 лет) деградированной питательной смеси на 50% азотном фоне от оптимального содержания, которое определяли по результатам агрохимического анализа питательной смеси и корректировали довнесением азотных удобрений [3]. Для установления пролонгированного действия регулятора, внесённого в рассадный период, растения высаживали в поле в соответствии с вариантами опытов в парнике. Полевой опыт осуществляли в соответствии с «Методическими указаниям по проведению полевых агротехнических опытов с табаком (Nicotiana tabacum L.)» [4]. Почва опытно-селекционного участка – выщелоченный малогумусный чернозем.

В результате экспериментов установлено, что замачивание семян табака в препарате Вэрва (экспозиция 3 часа) с концентрацией водного раствора 0,05% способствует увеличению массы проростков на 23%. Хорошие результаты также получены и при замачивании семян в концентрациях стимулятора 0,5%; 0,01% и 0,005%, при этом масса проростков увеличилась на 14 - 20%. При экспозиции 12 часов отмечено либо незначительное увеличение массы проростков, либо ингибирующее действие.

Исследования также показали, что рассада, выращенная с использованием препарата Вэрва, получается качественной, выровненной, с хорошо развитой корневой системой, что

является важным условием оптимального ведения культуры. Лучшие результаты отмечены при использовании препарата в концентрации 0,01%. На данном варианте растения превышали длину до точки роста в сравнении с контрольными на 55%, до конца листьев на 11%, массу корневой системы на 47%, а наземной части на 32%. Количественный выход стандартной рассады к моменту высадки на данном варианте составил 382 шт./м$^2$, что превысило контроль более чем в 3 раза (110 шт.). Несколько меньшие значения получены при использовании стимулятора в концентрациях 0,05% и 0,025%. Стоит отметить, что регулятор Вэрва оказал существенное антипатогенное действие, проявляемое в снижении поражения табака рассадными гнилями до 50%.

Положительное ростостимулирующее воздействие, проявленное ещё в рассадный период, продолжало выделять растения, обработанные препаратом, по всем биометрическим показателям весь вегетационный период. Так, высота растений на вариантах, обработанных регулятором Вэрва (0,01 %), превышала по фазам развития контрольные на 18-30%, при использовании концентраций 0,05% и 0,025% - на 10 - 20%. Отмечено увеличение площади листьев среднего яруса под воздействием препарата в концентрации водного раствора 0,01% и 0,025% на 28%, в концентрации 0,05% – на 20%. Учет урожая показал, что различия, отмеченные в росте и развитии растений табака, сопряженно отразились и на его урожайности. Обработка рассады препаратом Вэрва (0,025% и 0,01%) позволила получить достоверную прибавку и обеспечила повышение урожайности табака на 2,3 - 3,5 ц/га (7 - 10%) ($НСР_{05}$ = 1,85). Отмечено несущественное повышение урожайности на 0,7 ц/га (2%) после обработок препаратом в концентрациях 0,05%.

Оценка качества табачного сырья обработанного препаратом Вэрва, определила изменение крепости сырья за счёт увеличения содержания в сырье никотина, что является ценным показателем.

Таким образом, замачивание семян и двукратное опрыскивание растений в основные фазы развития рассады «крестик» и «готовая к высадке рассада» стимулятором Вэрва в концентрации водного раствора 0,01% [5] способствует повышению иммунитета растений к микопатогенам, увеличению выхода качественной стандартной рассады для высадки в оптимальные сроки более чем в 3 раза, повышению урожайности культуры на 3,5 ц/га (10%) и качества сырья на фоне сохранения оптимального состояния окружающей среды.

**Литература:**

1. Хуршкайнен Т.В., Кучин А.В. Лесохимия для инноваций в сельском хозяйстве // Известия Коми научного центра Уро РАН. 2011. № 1. - С. 17-23.
2. Плотникова Т.В., Алёхин С.Н., Саломатин В.А. Методическое руководство по изучению эффективности применения регуляторов роста растений при проращивании семян табака / ГНУ ВНИИТТИ, Краснодар, 2013. - 29 с.
3. Алёхин С.Н., Плотникова Т.В., Саломатин В.А. [и др.]. Методическое руководство по проведению агротехнических опытов с табаком в рассадниках / ГНУ ВНИИТТИ, Краснодар, 2013. – 27 с.
4. Алёхин С.Н., Саломатин В.А., Исаев А.П., Рудомаха В.П., Плотникова Т.В. [и др.]. Методическое руководство по проведению полевых агротехнических опытов с табаком (*Nicotiana tabacum* L.) / ГНУ ВНИИТТИ, Краснодар, 2011. - 42 с.
5. Патент № 2575105. Способ стимулирования роста и развития табака / Т.В. Хуршкайнен, А.В. Кучин, Т.В. Плотникова, В.А. Саломатин. заявл. 13.11.2014, опубл. 10.02.2016, Бюл. №4.

**Пономаренко С.П., Мельников О.В.**
ДП «Міжвідомчий науково-технологічний центр «Агробіотех» НАН та МОН України, Київ

# НАКОПИЧЕННЯ $C0_2$ ЗА ВИКОРИСТАННЯ БІОРЕГУЛЯТОРІВ РОСТУ РОСЛИН

*The results of $C0_2$ accumulation after the use of plant growth bioregulators are presented. It is found that aboveground and underground weight of plants coming into the soil, is a powerful storage of C-$C0_2$. With the use of PGB, the biomass of corn, winter wheat and rice accumulates the largest quantity of carbon by increasing the yield of cereal crops (increase in output of straw, roots and other residues).*

Для уповільнення темпів потепління на Землі потрібно зменшити загальну кількість вуглекислого газу в атмосфері і практикувати більш повну «утилізацію або захоронення» вуглецю. Для цього потрібна нова «зелена революція», яка дозволить збільшити виробництво рослинницької продукції і оздоровить навколишнє природне середовище.

За оцінками експертів, внесок світового сільського господарства становить до 20 % загального обсягу викидів парникових газів, включаючи 50 % світових викидів метану, 75 % - азоту, 5 % - вуглекислого газу. Ще 14 % загальних обсягів викидів припадає на зміни у землекористуванні [1]. Крім того, у Національному кадастрі антропогенних викидів парникових газів [2] зазначено, що найбільше накопичення $C0_2$ проходить за рахунок приросту біомаси лісу, а найбільші втрати цього газу відмічено з ріллі.

Покращення практики ведення сільського господарства може привести до зменшення вмісту вуглекислого газу у атмосфері, викликаного господарською діяльністю людини. Основою для цього є збільшення рослинної маси. У майбутньому технології вирощування сільськогосподарських культур будуть грати важливу роль, оскільки вуглекислий газ в атмосфері таким чином можна перетворити у рослинну біомасу, яка в основному складається з вуглецю. В Україні рілля становить 33 млн. га, тобто майже 50 % від усієї території (60,4 млн. га), отже ці технології будуть брати на себе левову частку накопичення $CO_2$ у органічній масі сільськогосподарських культур.

Саме життя на порозі третього тисячоліття привело світову науку та сільськогосподарського виробника до використання нових елементів високих технологій. Українські біорегулятори росту рослин (БРР) нового покоління та технології їх застосування стають протидією екологічному дисбалансу у рослинництві. Крім того, у сучасних інтенсивних технологіях вирощування сільськогосподарських культур надзвичайно велике значення має застосування екологічно безпечних та дешевих БРР для регуляції ростових процесів і підвищення стійкості культур до посухи, хвороб, вилягання тощо.

Науковими дослідженнями встановлено, що систематичне застосування БРР супроводжується зростанням продуктивності сільськогосподарських культур у середньому на 14-15 % [3]. Крім того, за даними наукових і виробничих дослідів та розрахунків, застосування БРР сприяє високій окупності витрат завдяки приростам урожаю [4]. Досить ефективними БРР є за вирощування зернових культур.

Природно-кліматичні умови та родючі ґрунти України сприяють вирощуванню всіх зернових культур і дають змогу отримувати високоякісне продовольче зерно в обсягах, достатніх для забезпечення внутрішніх потреб і формування експортного потенціалу.

В Україні на сьогоднішній день існує наступна структура посівних площ [5]: під зернові та зернобобові культури у 2012 році відведено 15565,2 тис. га або 57,2 % від всієї посівної площі, під технічні - 27,0 % (7549,7 тис. га), кормові - 8,5 %, що становить 2348,6 тис. га, картоплю та овоче-баштанні - 7,3% або більше 2 млн. га.

Між атмосферою і наземними екосистемами переміщуються великі обсяги $C0_2$, перш за все через фотосинтез і дихання. Приблизно половина $C0_2$, що поглинається рослинами, витрачається ними на дихання і повертається до атмосфери. Інша частина утворює протягом року загальну

продукцію біомаси, яка являє собою загальну наземну і підземну біомасу, а також мертву органічну речовину.

Антропогенна діяльність (знеліснення, внесення добрив, проведення меліорацій, лісозаготівля тощо) впливає на різні зміни у агроекосистемах, у тому числі і на потоки парникових газів - фотосинтез, відмирання та розкладання біомаси, формування органічної речовини ґрунту.

Деяка частина відмерлої органіки швидко розкладається та повертається у вигляді $C0_2$ у атмосферу, а інша у вигляді гумусу може зберігатися деякий час. Однак за інтенсивного землеробства проходить деградація ґрунтів, у тому числі дегуміфікація, що спостерігається у останні роки [6]. Цей процес призводить до мінералізації гумусу, а отже до вивільнення двоокису вуглецю. За окультурення ґрунтів, навпаки, дослідженнями встановлено накопичення вмісту та запасів гумусу.

Метою досліджень було провести оцінку потенційних можливостей накопичення $C\text{-}CO_2$ в агросфері з потенційними можливостями застосовувати БРР на всій площі вирощування зернових культур (середня зібрана площа зернових культур за 5 років становить 14,7 млн. га).

Методика розрахунків накопичення $C0_2$ зерновими культурами.

Розрахунок накопичення $C0_2$ під час вирощування зернових культур без застосування і з застосуванням БРР було проведено за такими статтями:

- врожайності та зібраної площі зернових культур за 5 років (2008-2012 рр.) заданими державної статистики [7];
- виходу соломи, пожнивних решток та коренів з вирощуваних зернових культур відповідно до рівнянь регресії [8]. Рівняння регресії приведені для двох рівнів урожайності — низької та високої, оскільки залежність кількості рослинних залишків від збільшення врожаю не завжди прямолінійна;
- розрахунку виходу сухої речовини з отриманої біомаси [9];
- розрахунку вмісту вуглецю в масі побічної продукції, стерні та коренів з подальшим перерахунком у $C0_2$ (коефіцієнт 3,7).

Крім того, такий підхід до розрахунків щодо включення у обіг пожнивних решток і коренів пропонується в Керівних принципах МГЕЗК 2006 р. [10]. На відміну від підходів [11, 12] метод [10] враховує не лише надходження складових ПГ в складі надземних залишків, а й надходження їх у грунт в складі підземних залишків (коренів);

- розрахунку утвореного гумусу, як резервуара вуглецю, від надходження у ґрунт соломи, побічної продукції та коренів.

Отримані результати. Найбільше акумулює вуглецю, тобто $C0_2$, біомаса кукурудзи, озимої пшениці та рису. Це пов’язано з найбільшою продуктивністю цих культур, що підтверджується дослідженнями [3, 13]. За рахунок збільшення врожайності зернових культур під час застосування БРР, збільшується вихід у тому числі і соломи та пожнивно-кореневих решток, тобто це сприяє більшій акумуляції $C\text{-}C0_2$ рослинами.

Середньозважений показник різниці $C0_2$ між застосуванням БРР і без застосування становить 3,53 т/га, або акумуляція рослинами збільшується майже на 20 %. Найменше від застосування БРР акумулює $C\text{-}C0_2$ ярий ячмінь (різниця поглинання майже 10 %), а найбільше — озима пшениця (різниця - 30,6 %). На всіх інших зернових культурах цей показник (різниця) у середньому становить від 10 до 13,5 %. У перерахунку на зібрану площу зернових культур (14,70 млн. га) різниця поглинання становить 51,91 млн. т.

Прийнята в країнах Східної Європи практика збору врожаю вказує на те, що заорюванню в ґрунт підлягає побічна продукція кукурудзи на зерно, сої, картоплі та інших овочів, соняшника, а також баштанних продовольчих та кормових культур. Сіно, солома та гичка інших культур, як правило, заготовлюється як корм та підстилка для сільськогосподарських тварин. Однак, в Україні, як показує практика сільськогосподарського виробництва, в останні роки з поля відчужується основна продукція (зерно), а солома та пожнивно-кореневі рештки приорюють, оскільки відсутня тваринницька база.

Наземна і підземна маса, яка надходить у ґрунт, є потужним резервуаром накопичення вуглецю ($C\text{-}C0_2$). Враховуючи, що для підвищення врожайності зернових культур на всю посівну площу зернових культур будуть застосовані БРР, це дасть змогу отримати додатковий приріст

рослинної маси. Як показують розрахунки, біорегулятори росту дадуть змогу акумулювати соломою та пожнивно-кореневими залишками в ґрунті в середньому на 2,15 т/га $C0_2$ більше, тобто різниця буде становити 31,58 млн, тонн цього газу на площі 14,7 млн. га. Акумуляція $C0_2$ без застосування БРР побічною та підземною масою становить 13,07, із застосуванням - 15,22 т/га. У перерахунку на всю зібрану площу це становить відповідно 192 та 224 млн. тонн $C0_2$.

У міру того, як відбуваються процеси гуміфікації *(утворення гумусу*) та мінералізації (*розкладу*) органічної речовини, вона перетворюється на гумус. Крім того, під час мінералізації утворюється багато інших компонентів. Деякі з них складаються з нестабільних сполук, які легко розкладаються мікроорганізмами, і вуглець у вигляді $C0_2$ повертається до атмосфери. За гуміфікації органічний вуглець перетворюється у стабільні сполуки (гумус), який у ґрунті може зберігатися століттями і тисячоліттями.

Сільськогосподарське використання ґрунтів впливає на надходження відмерлої органічної речовини, з подальшою її гуміфікацією і мінералізацією. Наприклад, застосування БРР призводить до збільшення врожаю сільськогосподарських культур, а отже і на надходження більшої кількості надземної і підземної біомаси, яка в результаті перетвориться у гумус. За літературними джерелами відомо, що з однієї тонни біомаси зернових культур утворюється у середньому 200 кг гумусу [8]. Надходження соломи та пожнивно-кореневих залишків у кількості від 6 до 13 тонн на гектар дає змогу утворитися до 0,8 до 3,0 тонн гумусу. Найбільше його утвориться під кукурудзою, озимою пшеницею та рисом.

У середньому за рік вирощування цих культур із застосуванням БРР утвориться гумусу більше на 80-480 кг на гектар площі. Середньозважений показник різниці становить 310 кг/га, на всю зібрану площу цей показник становить 4,61 млн. тонн. Для утворення такої кількості гумусу додатково потрібно внести 6 т/га гною або 88,2 млн. тонн. Ефективність використання БРР щодо утворення гумусу становить від 8 до 25%, у середньому майже 17%.

**Література:**


1. Lal R., Kimble L.M., Follett R.F. Потенциал обрабатываемых земель США по секвестрации углерода и смягчению парникового эффєкта. 1998. — 128 с.
2. Национальнй кадастр антропогенных выбросов из источников и абсорбции поглотителями парниковых газов в Украине за 1990-2010 гг. - К., 2012. - 729 с.
3. Тараріко Ю.О. Енергозберігаючі агроекосистеми. Оцінка та раціональне використання агроресурсного потенціалу України (Рекомендації на прикладі Степу і Лісостепу). - К.: ДІА, 2011. - 576 с.
4. Анішин Л.А., Пономаренко С.П., Грицаенко З.М. Регулятори росту рослин (рекомендації по застосуванню). — К., 2011.-40 с.
5. Посівні площі сільськогосподарських культур під урожай 2012 року (Статистичний бюлетень). - К.: Державний комітет статистики, 2012. - 53 с.
6. Національна доповідь «Про стан родючості ґрунтів України» / Редкол. Балюк С.А., Медвєдєв В.В., Тараріко О.Г., Греков В.О., Балаєв А.Д. - К., 2010. - 111 с.
7. Рослинництво України (Статистичний збірник). - К.: Державний комітет статистики, 2013.-180 с.
8. Нормативи ґрунтозахисних контурно-меліоративних систем землеробства / За ред. О.Г. Тараріко, М.Г. Лобаса. — К., 1998. - 158 с.
9. Довідник поживності кормів / За ред. д.с.-г.н. М.М. Карпуся, Друге вид., переробл. і доп. - К.: «Урожай», 1988. -400 с.
10. IPCC 2006, 2006 IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories, Prepared by the National Greenhouse Gas Inventories Programme, Eggleston FI.S., Buendia L., Miwa K., Ngara T. and Tanabe K. (eds). Published: IGES, Japan, v. 4, 678 p.
11. Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC) Revised 1996 IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories: Reference Manual, - J.T. Houghton et al., IPCC/OECD/IEA, Paris, France, v.3, chapter *4,* 140 p.
12. Intergovernmental Panel on Climate Change (2000). Good Practice Guidance and Uncertainty Management in National Greenhouse Gas Inventories, chapter 4, 94 p.
13. Формування біоенергетичних агроекосистем в зоні Полісся України. Науково-технологічне забезпечення аграрного виробництва Лівобережного Полісся (Рекомендації) / за ред. 10.0. Тараріко, О.М. Берднікова. - К.: ДІА, 2012. - 248 с.

**Ponomarenko S. P.[1], Petrenko A. N.[1], Pidberezko I. N.[2]**
[1] SE ISTC Agrobiotech, NAS and MES of Ukraine, Kiev, Ukraine
[2] Institute for Potato Research, NAAS, Kiev region, Ukraine

## APPLICATION OF THE BIOSTIMULANTS STIMPO AND REGOPLANT ON POTATO

*The article is related to the application of new multicomponent biostimulants Stimpo and Regoplant developed in a framework of three international projects (2006-2013) and registered in Ukraine in 2014. Conducted field trials (2012-2014) with the use of these products for growing of six potato varieties with different ripening terms and degree of resistance to diseases and pests showed clearly marked growth-regulatory properties and high bioprotective effect against wireworm, Colorado potato beetle and stem nematode. Possibility of reducing rates of application of the insecticide Cruiser by 20 and 50% without reducing the protective effect is proved.*
*Cost-effectiveness of the proposed technology for potato cultivation is high. The recommendations on the use of products for potato in farms and homestead gardens have been developed. These biostimulants have an international certificate "Organic" that opens the way to organic farming.*

**Potato growing in Ukraine**

Potato is one of the main crops that promotes food security of Ukraine. Potato growing is an important component of a food complex and it is the exclusive sector where production volumes have not changed over the past years.

In recent years, due to climate change we see the increase of total phytosanitary load in the agrocenoses of Ukraine. Harmfulness of disease is enhanced (late blight, early blight, Rhizoctonia blight, all kinds of scab, bacterial and viral diseases, stem and potato nematodes). Polyphagous soil pests (wireworms, larvae of beetles, mole crickets) became the real problem, their number often reaches a critical level.

We used multicomponent growth regulators with bioprotective effect Stimpo and Regoplant developed by the State Enterprise Interdepartmental Science and Technology Center “Agrobiotech” NAS and MES of Ukraine (www.agrobiotech.com.ua) as an effective element of plant protection system.

In recent years, many experiments are carried out and interesting data about effectiveness of their application is obtained, the mechanism of their physiological action on the cellular level is disclosed.

**Research methods.**

The research on potato were conducted in 2012-2014 in technological crop rotation of the Institute of potato NAAS, vil. Nemishayevo, Kyiv region.

Predecessor – lupine-oat green-manured fallow and embedding into the soil of winter rye green herbage as a green manure. Before planting the tubers the mineral fertilizers $N_{60}P_{60}K_{90}$ (nitroammophoska plus double manure salt) were spreaded during spring plowing.

Planting was carried out by spreading of the tubers in pre-made *furrows* 70 x 25 cm (57.2 thousand tubers per hectare). The total plot area was 40 m2, three-times replication, the planting of tubers was carried out 05.05.2012, 07.05. 2013 and 23.04.2014.

Before harvesting 10 plants were unearth on each plot for determination of yield structure and tuber samples were taken to determine of dry basis, starch and crude protein content.

Accounting for soil pests before planting the tubers was carried out at the bud stage and after harvesting. 4 holes 50x50 cm, with depth of 20-25 cm, were dug on each plot for this purpose. Soil from each plot was fingered and pests were counted (the number per 1 $m^2$.

Invasive background of stem nematode with a density of 16-18 thousand per one tuber was created by artificial means – the spreading during planting of potato discs weighing 25-30 grams, obtained from infected tubers according to the conventional method.

The experiments were conducted on cultivars Skarbnytsya, Cimmeria, Svitanok Kyiv, Tiras.

To protect against the Colorado potato beetle the insecticide Confidor ("Bayer Crop Science", Germany) was used, against late blight, early blight – fungicide Acrobat MC, (BASF Agro BV, Switzerland), for complex protection against soil pests and the Colorado potato beetle – protectant Cruiser 350 FS ( "Syngenta", Switzerland), and against the stem nematode – protectant Shedevr, KS (LLC "Present Technologies", Ukraine, "Zhendzhiang Agrin Co. Ltd", China).

**Research results**

The effect of joint use of disinfectant Cruiser with biostimulants Stimpo and Regoplant on the density and harmfulness of wireworms, growth and development of plants, yield and marketability of tubers was investigated in the experiment No 1.

Amount of potato stems under the influence of biostimulants was by 8.1-16.2% higher compared to the control without treatment. Under the influence of Stimpo quantity of stems averaged 6.1 thousand per one hectare, under the influence of Regoplant – 4.5 thousand.

The area of leaf surface of 1 plant under the action of biostimulants has increased by 240-408 $cm^2$ (9.8%), that promoted an increase in the absorption of $CO_2$, and yield.

Processing of tuber and crops at the stage of fully sprouted seed potatoes and bud stage helped to preserve harvested tubers by 22.2-37.1% and increase its marketability by 13.1-16.2%.

Application of Stimpo and Regoplant was effective in controlling soil pest wireworm. The number of species in the variants with application of biostimulants decreased by 40.0-80.0%.

The efficiency of Stimpo and Regoplant in controlling the density of the Colorado potato beetle with the integrated use of biostimulants together with disinfectant Cruiser was shown. In most variants, the level of the pest density was reduced by 30.0-100.0%. So, decreasing for adult insects averaged 57.5%, for egg-layings – 71.5)%, for larvae – 98.0% compared to the untreated control.

In the experiment No 2 we studied the effect of biostimulants Stimpo and Regoplant on the colonization of potato tubers by stem nematodes. Research has established that in all the variants with the use of biostimulants the decrease of colonization averaged by 21.1% compared to the control.

The treatment of tubers and crops at the stage of fully sprouted seed potatoes and budding stage with biostimulants has a positive effect on yield capacity and leads to the preservation of tubers by 36.7-87.2% depending on the variety. The positive impact on the marketability of potato tubers was 3.0-18.5%.

The results show that the use of biostimulants for controlling stem nematode is cost-effective. One Euro invested in technology pays off on average 7.0-9.5 Euros (Table 1).

**Table 1. Economic efficiency of the biostimulants using on potato Skarbnytsia, EUR**

| Variant | Additional marketable yield | | Cost of additional yield | Additional costs, EUR/ha | | Operating profit, EUR/ha |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | t/ha | % | | harvesting and transport | cost of biostimulants | |
| Control | - | - | - | - | - | - |
| Cruiser - standard | 6.4 | 38.3 | 640 | 6.4 | 80 | 355.0 |
| Biolan - standard | 6.6 | 39.5 | 660 | 6.6 | 3.7 | 632.4 |
| Stimpo | 7.2 | 43.1 | 720 | 7.2 | 4.0 | 682.8 |
| **Regoplant** | **8.6** | **51.5** | **860** | **8.6** | **9.0** | **831.4** |

Note: This technology allowed a 60% reduction in the number of wireworms in the soil (Institute of Potato NAASU, 2012-2014).

**Findings:**

1. Biostimulants Biolan, Stimpo and Regoplant and pesticide Cruiser (in the dose recommended by the originator and reduced by 20 and 50%) lower population of wireworms by 75-80%, the Colorado potato beetle by 75-100%, that leads to an increase in yield by 14-60% and the marketability of tubers by 1.9-7.8%.
2. Preplanting treatment of tuber varieties Neva, Tiras, Svitanok Kyiv with mixtures of pesticide Shedevr, reduced by 20%, together with bioregulators Stimpo and Regoplant plus double treatment of plants with bioregulators during the growing season reduces the population of stem nematode by 24.2-89.8% .
3. Application of biostimulants during cultivation of varieties Neva, Tiras, Svitanok Kyiv has ensured an increase in tuber yield: Stimpo – by 13.5-34.6%; 40.5-45.0 and 24.8-33.9%; Regoplant – by 26.9-50.0%, 40.5-87.4%, 24.8-40.1%, as well as increasing in marketability by 1.9%-7.2% as compared to the control.

**Прокопчук О. І.**
Тернопільський національний педагогічний університет ім. В. Гнатюка,Тернопіль, Україна

## АКУМУЛЯЦІЯ ФОСФОРУ NASTURTIUM OFFICINALE R. BR. У МОДЕЛЬНОМУ ЕКСПЕРИМЕНТІ

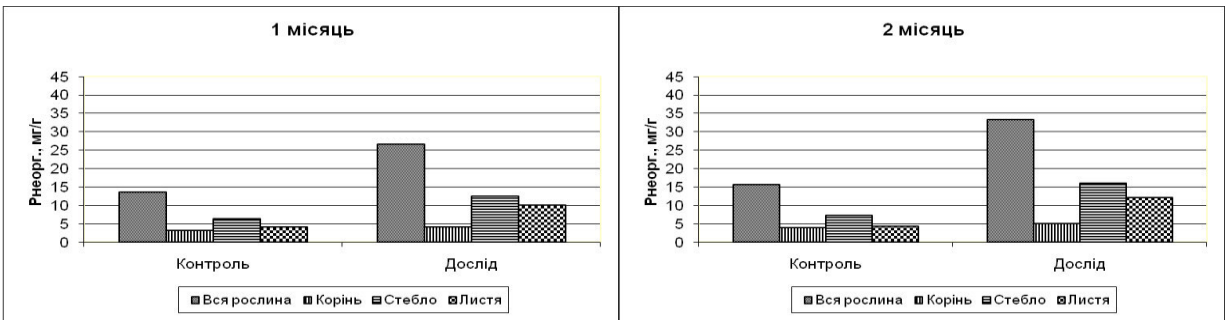
*Phosphorus and phosphorus accumulation of water Nasturtium officinale R. Br. in model experiment were studied. Proved that the largest number of phosphorus accumulates in the stem of the plant, andaccumulation phosphorus from wateroccuresby a stem and root system of plants, due to the physiological characteristics of life and metabolism, also physiological and ecological requirements of the habitats.*

**Вступ.** У водних рослин добре розвинуті механізми поглинання фосфору, особливо найбільш біодоступної для них форми – розчиненого ортофосфату ($PO_4^{3-}$). Вміст фосфатів у рослинних організмах є одним із показників їхнього фізіологічного стану, оскільки метаболізм фосфору в значній мірі визначає можливість виживання рослин у несприятливих умовах середовища [5]. Однією з водних рослин, яка поширена в межах України у зволожених місцевостях та водоймах, є Настурція лікарська або Водяний крес-салат (*Nasturtium officinale* R. Br.). Ця рослина має у своєму складі чи не найбільшу кількість фосфору серед інших водних рослин, які зростають у подібних умовах середовища [6].

**Метою** дослідження було вивчення вмісту Рзаг. у *Nasturtium officinale* R. Br. та акумуляції фосфору із води рослиною у розрізі місяців у модельному експерименті.

**Матеріали і методи.** Для проведення дослідження було відібрано зразки води та рослини з р. Серет в околицях м. Тернополя для визначення в них вмісту фосфатів за методикою [4]. Відібрані зразки *Nasturtium officinale* R. Br. було поміщено у простерилізовані скляні банки ємністю 3 л із водою з р. Серет (контрольні проби) та відстояною водопровідною водою із додаванням натрію фосфату з концентрацією фосфору 3,5 мг/дм³ (дослідні проби). Рослини культивували протягом 4 місяців (жовтень 2015 року – січень 2016 року) у модельних умовах з температурою повітря 18-20ºС, температурою води 14-16ºС та освітленістю 10000 Лк за допомогою люмінесцентних ламп 16/8 год. Вміст Рзаг. у рослинах визначали щомісяця за допомогою методики [1].

**Результати.** Поглинання фосфору із води *Nasturtium officinale* R. Br. у природніх умовах відбувається стебловою частиною рослинного організму, після чого фосфор та інші поживні для рослини речовини направляються до зон його інтеркалярного та апікального росту (листя, кореня), а потім і в плоди [2; 3]. Нами проаналізовано динаміку вмісту *Рзаг. у Nasturtium officinale R. Br.* у модельних умовах у розрізі місяців (рис. 1).



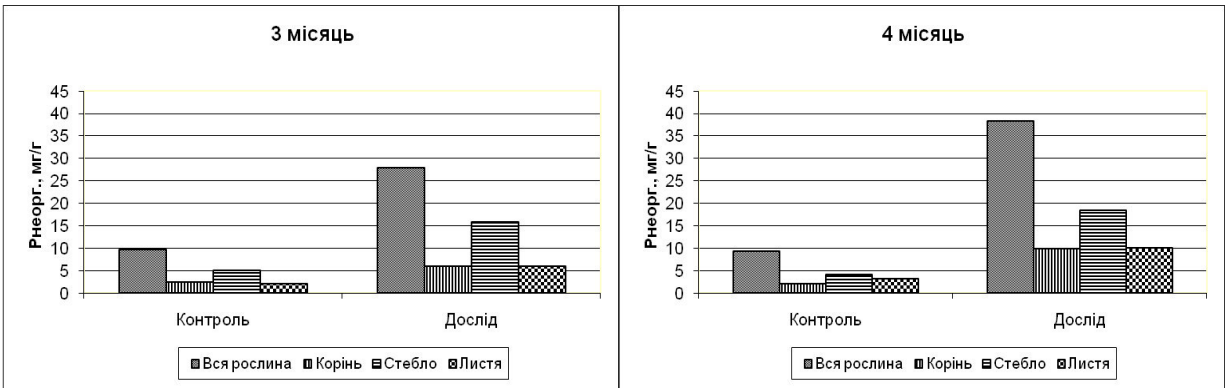



Рис. 1. Вміст *Рзаг. у Nasturtium officinale R. Br.*

Як відомо, *Nasturtium officinale* R. Br. є напівприкріпленою рослиною зі слаборозвиненою кореневою системою, що співвідноситься з переважаючою поглинальною щодо фосфатів здатністю цієї вегетативної частини організму рослини [6]. Впродовж 1-го та 2-го місяців дослідження виявили, що найефективніше акумулює фосфор стебло, від якого елемент надходить до листя. Однак, протягом 3-го та 4-го місяців, коли фосфор для росту листя вже не потрібний, найбільша акумулююча здатність виявлена у кореневій системі із максимальними показниками у 4-й місяць дослідження. Отже, *Nasturtium officinale* R. Br. виступає активним фосфорфіксатором протягом перших двох місяців дослідження. Виявлено зменшення накопичувальної здатності фосфору Настурцією лікарською, а саме: 42,3% у контрольних пробах і 44,2% у дослідних пробах фосфору акумульовано у стеблі, 32,9% і 32,4% – у корені і 25,2% і 23,2% – у листках відповідно.

***Акумуляція фосфору із води Nasturtium officinale R. Br***. Отримані дані щодо вмісту фосфору у *Nasturtium officinale* R. Br. співвідносяться з їх здатністю поглинання фосфорних сполук із води. Так, коефіцієнт акумуляції фосфору із води становить 6,5% у контрольних рослин і 5,1% у досліді. Разом з тим, рослина має високу здатність акумулювати фосфати як кореневою, так і стебловою частинами. Із переважанням кореневого шляху живлення рослини можливе вилучення з екосистеми фосфорних сполук з ґрунту та намулу, а із переважанням стеблового шляху живлення – вилучення фосфатів з товщі води, що важливо для очищення гідроекосистеми від надлишку розчинених фосфатів.

**Висновок.** Отже, *Nasturtium officinale* R. Br. є універсальною водною рослиною із розвинутою коренево-стебловою системою акумуляції фосфору, яка може бути використана для вилучення фосфатів з ґрунту та намулу водойм, а також для зменшення евтрофікації водойм.

**Література:**

1. ГОСТ 26657–97 Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения содержания фосфора. 58–68 с.
2. Курсанов А. Л. Транспорт ассимилятов в растении/ А. Л. Курсанов. - М. : Наука, 1976. - 646 с.
3. Макрушин М. М., Макрушина Є. М., Петерсон Н. В., Мельников М. М. Фізіологія рослин. /За редакцією професора М. М. Макрушина. Підручник. – Вінниця: Нова Книга, 2006. – 416 с.
4. Методика виконання вимірювань «Поверхневі та очищені стічні води. Методика виконання вимірювань масової концентрації розчинених ортофосфатів фотометричним методом». МВВ081/12-0005-01 від 16.11.2001р. – 17 с.
5. Пасичная Е. А., Горбатюк Л. О., Арсан О. М., Савлучинская М. А., Кукля И. Г., Платонов Н. А., Бурмистренко С. П. Влияние соединений фосфора на водные растения (обзор)// Гидробиологический журнал. - 2015. - Т. 51, № 1. С. 93–108
6. Определитель высших растений Украины/ отв. ред. Ю.Н.Прокудин. - К. : Наук. думка, 1987. - 548 с.

**Pykalo S.V.[1], Bavol A.V.[2], Dubrovna O.V.[2]**
[1]The V.M. Remeslo Myronivka Institute of Wheat, NAAS of Ukraine, Kyiv region, Ukraine
[2]Institute of Plant Physiology and Genetics, NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

# CYTOGENETIC EFFECT OF SODIUM CHLORIDE ON CALLUS CULTURES OF WINTER TRITICALE

*The results of the study of the cytogenetic structure of winter triticale callus tissues during their cultivation on selective medium supplemented with sublethal concentration of sodium chloride are presented. It was established that sublethal concentration of stress factor has clastogenic effect and causes turbagenic disturbances in callus cells. Analysis of genetic structure of cell populations cultured under sublethal concentration of the sodium chloride has demonstrated significant increase in aneuploidy and frequency of segregation to rye and wheat genomes as well as prevalence of cell populations with reduced relative to the modal number of chromosomes.*

**Introduction.** Triticale (×*Triticosecale* Wittmack), the artificial wheat×rye amphidiploid, was created in an attempt to combine the grain quality and productivity of wheat with the superior performance of rye in marginal environments [1]. In modern triticale breeding programs special attention is paid to combining high potential productivity of cultivars and their ability to withstand biotic and abiotic factors [2,3]. Salinity in soil or water is one of the major abiotic stresses that reduce plant growth and crop productivity worldwide [4]. It is known that under action of salt agents a number of morphological and cytogenetic changes in cells cultured *in vitro* occurs [5].

**Aim.** The aim of the work is to study cytogenetic structure of winter triticale callus tissues during their cultivation on selective medium supplemented with sodium chloride.

**Methodology.** Material for studies there were callus cultures derived from shoot apex explants of 3-day-old sterile seedlings of winter hexaploid triticale line 38/1296. Calli were planted on modified MS medium containing sublethal concentration of sodium chloride – 1.2 %. Callus cultures grown on medium free of sodium chloride as stress factor were control. Cytogenetic analysis was carried out on calli culturing on $5^{th}$–$7^{th}$ day during I, III and VI passages. Press temporary samples were prepared according to standard procedures. On an average 100-150 metaphase and anaphase plates were analyzed in each variant of the experiment. Cytogenetic effect of sodium chloride on triticale tissue culture was determined by the change in the ratio of cells of different ploidy levels, frequency of structural chromosome aberrations and mitotic abnormalities.

**Results.** Resulted from the research in calli cultivated on selective medium a significant increase in the number of aneuploid, diploid and tetraploid cells was detected (fig. 1).

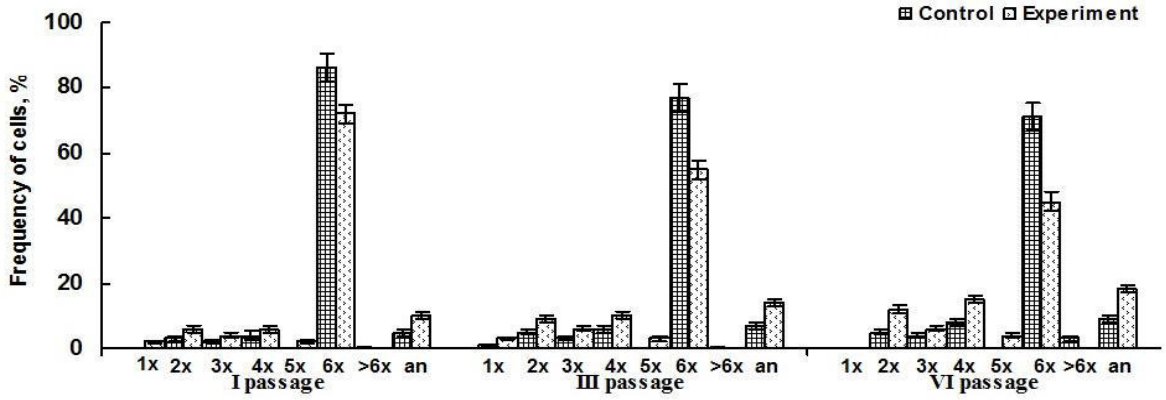
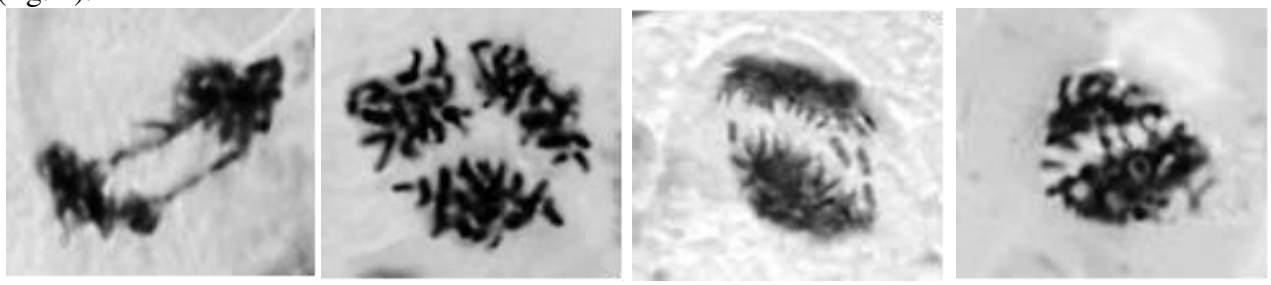



**Fig. 1.** Distribution by number of chromosomes in triticale callus cells cultured on selective medium and control: horizontal – number of sets of chromosomes; vertical – frequency of cells, % (an - aneuploid cells, x=7).

Also there was observed the appearance of haploid and pentaploid cells. A significant difference between the control and experiment in portion of triploid cells was not detected, and polyploid cells almost were never found.

The presence in the medium of sublethal concentrations of sodium chloride resulted in increased frequency of chromosomal aberrations, mainly as chromatid bridges and fragments (fig. 2).



*a* *b* *c* *d*

**Fig. 2.** Types of chromosomal aberrations and disturbances of mitosis in callus cells of triticale cultivated under salt stress conditions: a – chromatid bridges; b – multipolar mitoses; c – multiple fragments; d – multiple disturbances.

The total part of aberrant anaphases with fragments was about 65 %. There were also isolated cells from multiple disorders, i.e. those which contained simultaneously both fragments and bridges (fig. 2, d). Disturbances of mitosis were mainly presented by cells with multipolar mitoses (fig. 2, b) being a character of apoptosis, genomic instability and a significant indicator for genotoxic effect of sodium chloride on cells [6,7].

**Conclusions.** Thus, we have observed cytogenetic effect of NaCl on callus culture of winter triticale. Cytogenetic analysis of callus cultures showed a high degree of heterogeneity and significant differences in cytological processes between calli that were grown on selective vs. control media. It was established that sublethal concentration of stress factor has clastogenic effect and causes turbagenic disturbances in callus cells. Analysis of genetic structure of cell populations cultured under sublethal concentration of the sodium chloride has demonstrated significant increase in aneuploidy and frequency of segregation to rye and wheat genomes as well as prevalence of cell populations with reduced relative to the modal number of chromosomes.

**References:**

1. Oettler G. The fortune of a botanical curiosity – Triticale: past, present and future // J. Agric. Sc. – 2005. – Vol. 143, № 5. – P. 329–346.
2. Audenaert K., Troch V., Landschoot S., Haesaert G. Biotic stresses in the anthropogenic hybrid triticale (×Triticosecale Wittmack): current knowledge and breeding challenges // Eur J Plant Pathol. – 2014. – Vol. 140. – P. 615–630.
3. Blum A. The abiotic stress response and adaptation of triticale – a review // Cereal Research Communications. – 2014. – Vol. 42, № 3. – P. 359–375.
4. Bartels D., Sunkar R. Drought and salt tolerance in plants // Critical Reviews in Plant Sciences. – 2005. – Vol. 24, № 1. – P. 23–58.
5. Kononowicz A. Floryanowicz-Czekalska K., Clithero J. Cromosome number and DNA content of tobacco cells adapted to NaCl // Plant Cell Rept. – 1990. – Vol. 8. – P. 672–675.
6. Rasola A., Farani D., Hofman P., Rossi B. Lack of internucleosomal DNA fragmentation is related to Cl – efflux impairement in hepatopoietic cell apoptosis // FASEBJ. – 1999. – Vol. 13. – P. 1711–1723.
7. Fiskesjo G. In vitro toxity testing protokol. – Humana Press, Totowa, 1995 – NJ. – P. 119–127.

**Рудницька М.В., Палладіна Т.О.**
Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, Київ, Україна

## ВПЛИВ БІОАКТИВНИХ ПРЕПАРАТІВ МЕТІУР ТА ІВІН НА АКТИВНІСТЬ $Ca^{2+}$-АТФази У ВАКУОЛЯРНІЙ МЕМБРАНІ КЛІТИН КОРЕНІВ КУКУРУДЗИ ЗА УМОВ ЗАСОЛЕННЯ

*The effect of seed treatment with bioactive agents on $Ca^{2+}$-ATPase vacuolar membrane of corn root seedlings cells engaged in removing $Ca^{2+}$ from the cytoplasm to vacuolar space was investigated. It was shown that after treatment with preparations under study during exposition of seedlings in the presence of $Na^{+}$ an increase in hydrolytic and transport activity of $Ca^{2+}$-ATPase was observed, and this action intensified mostly after Methiur action. Thus saltprotective effect of Methiur and Ivin is associated with influence on Ca transport as secondary messenger in the process of $Na^{+}$ removal.*

Засолення ґрунтів є для рослин одним з найсильніших стресових факторів, негативна дія якого зумовлена переважно присутністю в солях $Na^{+}$ як головного катіона. Його видалення з цитоплазми клітин назовні та до вакуолярного простору здійснюється $Na^{+}/H^{+}$-антипортерами, активність яких залежить від концентрації $Ca^{2+}$, котрий запускає їх регуляторний ланцюг. Проблема регуляції активності $Na^{+}/H^{+}$-антипортерів вимагає вивчення впливу різноманітних біоактивних препаратів на роботу мембраних ферментів, зокрема $Ca^{2+}$-АТФаз.

Метою нашого дослідження було вивчення впливу синтетичних препаратів Метіур (6-метил-2-меркапто-4-гідроксипіримідин) та Івін (N-оксид-2,6-диметилпіридин) на функціонування $Ca^{2+}$-АТФази у вакуолярній мембрані клітин коренів проростків кукурудзи експонованих на NaCl.

Застосування препаратів здійснювалось шляхом замочування насіння Zea mays L. (гібрид Остреч СВ) на 1 добу в $10^{-7}$М водних розчинах Метіуру та Івіну. Проростки вирощувалися у водній культурі на середовищі Хогленда й у тижневому віці експонувалися в присутності 100 мMNaClпротягом 1 та 10 діб. Дослідження здійснювалося на вакуолярних мембранах ізольованих з коренів проростків за методом Pooleetal.[1]. Гідролітичну активність $Ca^{2+}$-АТФази визначали за Carnelli [2], транспортну – за PfeifferandHager [3], застосовуючи флуоресцентний зонд Fluo 4 AM.

Знайдено, що за відсутності засолення обидва препарати посилювали лише гідролітичну активність $Ca^{2+}$-АТФази. Присутність NaCl знижувала транспорну активність у контролі, тоді як застосування препаратів, особливо Метіуру, посилювало обидві активності, при 1 добовій сольовій експозиції й меншою мірою при 10 добовій, тоді як подібний ефект Івіна виявився слабшим.

Таблиця 1. Вплив препаратів Метіур та Івін на активність $Ca^{2+}$-АТФази вакуолярної мембрани клітин коренів проростків кукурудзи

| Препарат | Вік проростків | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 8 діб | % по відношеню до контролю | 17 діб | % по відношеню до контролю |
| *А. Гідролітична активність (нмоль $P_н$/мг протеїну·хв)* | | | | |
| Контроль | 32,4±1,2 | 100 | 33,5±1,9 | 100 |
| Метіур | 57,3±2,7# | 177 | 62,8±3,1# | 187 |
| Івін | 48,6±1,5# | 150 | 51,1±1,7# | 153 |
| *Б. Транспортна активність (Δ%F/мг протеїну·хв)* | | | | |
| Контроль | 48,4±2,1 | 100 | 49,5±2,6 | 100 |
| Метіур | 54,1±1,1# | 112 | 58,2±2,3# | 118 |
| Івін | 49,9±1,2# | 103 | 52,9±1,9# | 107 |

M±m; n=6, p<0,05, # -різниці достовірні відносно контролю без сольової експозиції

Таблиця 2. Вплив препаратів Метіура та Івіна на активність $Ca^{2+}$-АТФази вакуолярної мембрани клітин коренів проростків кукурудзи, експонованих у присутності 100 мМ NaCl

| Препарат | 100 мМNaCl у середовищі | Вік проростків | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 доба | % по відношеню до контролю | 10 діб | % по відношеню до контролю |
| *А. Гідролітична активність (нмоль $P_н$/мг протеїну·хв)* | | | | | |
| Контроль | NaCl | 31,8±1,5 | 100 | 49,7±1,3 | 100 |
| Метіур | NaCl | 78,2±2,4#* | 245 | 82,1 ±2,6#* | 165 |
| Івін | NaCl | 71,7±2,2#* | 225 | 71,9±2,9#* | 145 |
| *Б. Транспортна активність (Δ%F/мг протеїну·хв)* | | | | | |
| Контроль | NaCl | 37,7±1,1 | 100 | 54,9±1,9 | 100 |
| Метіур | NaCl | 77,6±1,2#* | 205 | 79,5±1,6#* | 144 |
| Івін | NaCl | 70,8±2,4#* | 187 | 71,3±2,9#* | 129 |

M±m; n=6, p<0,05, # -різниці достовірні відносно контролю без сольової експозиції,
* різниці достовірності відносно контролю при експозиції 100 мМ NaCl

Одержані результати продемонстрували здатність обох препаратів посилювати активність $Ca^{2+}$-АТФази у вакуолярній мембрані за присутності $Na^+$, причому вплив Метіура виявився сильнішим. Таким чином, Метіур здатний сильніше впливати на процеси видалення з цитоплазми $Na^+$ до вакуолярного простору, завдяки здатності посилювати активність $Ca^{2+}$-АТФази у вакуолярній мембрані.

**Література:**

1. Poole R.J., Briskin D.P., Kratky Z. and Johnstone R. M. // Plant Physiol., 1984. –74. – P. 594-556.
2. Carnelli A., De Michelis M. I., and Rasi-Caldogno F. // Plant Physiol. – 1992. – 98. – P. 1196-1201.
3. Pfeiffer W., Hager A. //Planta. – 1993. – 191. – P. 377-385.

**Русакова М. Ю. [1], Тягнирядно Л.Ю. [2], Рущак О. В. [2]**
[1]Біотехнологічний науково-навчальний центр,
Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, Одеса, Україна
[2]Кафедра мікробіології, вірусології та біотехнології,
Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, Одеса, Україна

## ХАРАКТЕРИСТИКА ВЗАЄМОДІЇ ДЕЯКИХ ПРЕДСТАВНИКІВ РОДУ *PSEUDOMONAS* З ІНШИМИ УЧАСНИКАМИРИЗОСФЕРИ РОСЛИН

*In this work the form of interaction between Pseudomonas bacteria with some bacilli and phytopathogenic Fusarium and Trichoderma fungi was researched. The Pseudomonas greatest influence on the seed germination and pathogenic microorganisms was due to produce of indolyl-3-acetic acid and siderophore.*

Останнім часом велика увага приділяється розвитку екологічних методів боротьби із захворюваннями культурних рослин. Дані методи розглядаються як альтернатива хімічному захисту, що негативно впливає на екологію агрофітоценозів. Серед них особливе місце займають мікробіологічні препарати на основі мікроорганізмів, що входять до складу ризосфери [2, 3].

Частіше за інших мікроорганізмів-антагоністів використовують представників роду *Pseudomonas*, які стимулюють ріст та розвиток рослин не тільки завдяки здатності до азотфіксації, покращення водного та мінерального живлення, але й за рахунок утворення біологічно активних речовин [4]. Так, механізми антагоністичної взаємодії більшості псевдомонад і фітопатогенів включають, перш за все, здатність до синтезу широкого спектру антибіотичних речовин [1].

Метою даної роботи було дослідження процесу утворення бактеріями видів *Pseudomonas fluorescens* та *P. chlororaphis* метаболітів, які викликають затримку розвитку деяких фітопатогенів та стимуляцію розвитку рослин.

В роботі було визначено здатність окремих штамів псевдомонад продукувати наступні екзометаболіти: сидерофори, ферменти (целюлази, ліпази та протеази), індолил-3-оцтову кислоту, а також форму взаємодії з такими представниками ризосфери рослин, як *Bacillus spp., Fusarium graminearum*, *Trichoderma koningii* [1, 5]. Середовища, які було застосовано, містили всі необхідні поживні компоненти для розвитку бактерій та продукції ними вторинних метаболітів. Оптимальною температурою вирощування культур були 22 $^{o}$C.

Досліджувані штами *P. fluorescens* ОНУ 303, АТСС 13325 та *P. chlororaphis* ОНУ 304, ОНУ 305, виробляли сполуки, які викликали підвищення швидкості проростання насіння рослин. Найбільш інтенсивне накопичення вторинних метаболітів відбувалось на п’яту добу. Найвищий рівень фітостимулюючої активності був характерний для штамів виду *P. fluorescens* та обумовлював збільшення довжини паростків на 25-40 % у порівнянні з відповідним контролем.

Досліджувані штами *P. fluorescens* ОНУ 303 та *P. chlororaphis* ОНУ 305 впродовж сумісного культивування з більшістю досліджуваних штамів бацил проявили взаємний антагонізм, у той час як *P. fluorescens* АТСС 13325 та *P. chlororaphis* ОНУ 304 щодо представників роду *Bacillus* виявили нейтральний характер взаємодії. Пригнічення росту досліджуваних видів грибів та псевдомонад спостерігалось у випадку спільного культивування *P. fluorescens* ОНУ 305 зі всіма штамами грибів, *P. fluorescens* ОНУ 303 з *F. graminearum* БННЦ 3 або *T. koningii* БННЦ 5. Між іншими комбінаціями мікроорганізмів не було характерного взаємного впливу.

Важлива роль сидерофорів у стимуляції росту рослин, а також в антагоністичних взаємовідносинах псевдомонад з фітопатогенами, вже неодноразово доведено [3]. Без додаткового внесення іонів заліза (III) за інтенсивністю продукції сидерофорів досліджувані штами можна розташувати наступним чином: *P. fluorescens* ОНУ 303 > *P. chlororaphis* ОНУ 304 > *P. chlororaphis* ОНУ 305 > *P. fluorescens* АТСС 13325. При додаванні $Fe^{3+}$ спостерігались певні зміни інтенсивності виділення сидерофорів досліджуваними штамами. Так, при вмісті 30 мкг/мл $Fe^{3+}$ утворення цих сполук клітинами пригнічувалось. При збільшення вмісту заліза до 1000 мкг/мл, що відповідає граничній лімітуючій концентрації іонів, яку було визначено у чорноземному грунті, отримали такі результати: найвища кількість сидерофорів, продукувалась штамами *P. chlororaphis*, дещо менша – *P. fluorescens*.

Індолил-3-оцтова кислота є фітоалексином та позитивно впливає на довжину паростків [4]. Серед досліджуваних культур тільки *P. fluorescens* ОНУ 303 та *P. aureofaciens* ОНУ 304 утворювали дану речовину. Порівнюючи динаміку синтезу індолил-3-оцтової кислоти та швидкість проростання насіння, було встановлено, що підвищення концентрації даної сполуки у середовищі обумовлює суттєве збільшення довжини паростків.

Найбільш активним продуцентом ферментів, які мають важливе значення у процесі колонізації ризосфери рослин, виявився штам *P. fluorescens* ОНУ 303. Найменш вираженими у даного мікроорганізму були ліпази.

Таким чином, позитивний вплив ґрунтових мікроорганізмів, зокрема *Pseudomonas spp.,* на проростання насіння рослин складається з декількох факторів. Найбільш важливими серед них є продукція індолил-3-оцтової кислоти та сидерофорів, а також здатність до утворення цілого ряду ферментів, що визначає антагоністичний вплив псевдомонад на фітопатогенні мікроорганізми.

**Література**

1. Кипрушкина Е. И., Колодязная В. С., Чеботарь В. К. Экологически безопасные методы в интегрированной защите и сохранении растительной продукции // Пищевая промышленность. – 2013. – № 2. – С. 8 – 10.
2. Шерстобоєва О. В. Роль мікробіологічних препаратів у підвищенні продуктивності рослин екологічно безпечними засобами // Физиология и биохимия культурных растений. – 2004. – № 3. – С. 239 – 238.
3. Areen L., Burton F., Scha P. Plant root-microbe communication in shaping root microbiomes // Plant Mol. Biol. – 2015. – Vol. 1. – P. 575 – 587.
4. Gray E. J., Smith D. L. Intracellular and extracellular PGPR: Commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes // Soil Biol. Biochem. – 2005. – Vol. 37. – P. 395 − 412.
5. Heydari A., Pessarakli M. A review on biological control of fungal plant pathogens using microbial antagonists // J. Biol. Sci. – 2010. – Vol. 10. – P. 273 − 290.
6. Van Loon L. C., Bakker P. Root-associated bacteria inducing systemic resistance // Plant-Ass. Bact. − 2006. – Vol. 20. – P. 269 − 316.

**Самойлов А.М., Теличко В.В., Жмурко В.В.**
Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, Харків, Україна

# ВПЛИВ ФЕНОЛЬНИХ КИСЛОТ ФЕНІЛПРОПАНОЇДНОГО РЯДУ, ЯКІ ВХОДЯТЬ ДО СКЛАДУ КОРЕНЕВИХ ЕКСУДАТІВ ПШЕНИЦІ, НА РІСТ ТА ХЕМОТАКСИС *AZOSPIRILLUM BRASILENSE*

*The effects of 4-hydroxy-, 4-hydroxycinnamic and ferulic acids on the growth and chemotaxis of azospirilla were studied. Azospirillum brasilense 410 showed the highest growth in the presence in the culture medium of these acid anions in concentrations 16-32 μM, 128-256 μM and 1-16 μM, respectively. 4-hydroxybenzoate effected the azospirilla' chemotaxis at concentrations 128-512 mmol/L, wheares 4-hydroxycinnamate and ferulat were chemoattractants in lower concentrations – 4-16 mmol/L and 2-64 mmol/L, respectively..*

Азоспірили здатні формувати азотфіксуючі комплекси з широким колом небобових культурних та дикорослих рослин та є одними з найбільш досліджуваних асоціативних діазотрофів, яких відносять до групи PGPR (plant growth promoting rhizobacteria). Зокрема, *Azospirillum brasilense* вважають специфічним азотфіксатором ряду злакових рослин, зокрема пшениці. Азоспірили позитивно впливають на ріст рослин та розвиток кореневої системи, забезпечують їх звязаними формами азоту, продукують нітрит та моноокис азоту, фітогормони, тощо. Взаємозв'язок рослин і комплексу мікроорганізмів ризосфери здійснюється, в першу чергу, кореневими виділеннями рослин, які забезпечують не тільки трофіку ризоценозу, але й специфчічність взаємодії рослини-мікроорганізми та регуляцію асоціації в цілому. В якості сигнальних молекул серед кореневих метаболітів можуть виступати фенольні сполуки. Показано, що кавова, 4-гідроксибензойна, протокатехова та інші фенольні кислоти здатні впливати на хемотаксичну реакцію та ріст азоспірил [3,4]. Однак, у більшості пшениць, за даними Wu зі співавт. [4], у складі кореневих ексудатів переважають транс- та цис-ферулова, 4-гідрокцинамова та інші фенольни кислоти, вплив яких на азоспірил досліджено недостатньо. У тому числі відсутня інформація щодо впливу цих фенольних кислот на ріст та хемотаксис азоспірил, виділених з природніх еконіш України.

Тому метою роботи було вивчити вплив ферулату, 4-гідроксибензоату та 4-гідроксицинамату на ріст та специфічний хемотаксис *Azospirillum brasilense* в умовах культивування у безазотистому середовищі.

В якості модельного об’єкту використали штам *Azospirillum brasilense* 410, який культивували у рідкому безазотистому малатумісному середовищі NFb. Клітини збирали центрифугуванням при 4000 об/хв та відмивали 0,01 М фосфатним буфером, рН 7,0. Отримували суспензію клітин з оптичною густиною $A_{590}$ 1,0. Специфічний хемотаксис (позитивний чи негативний) азоспірил вивчали у напіврідкому середовищі з 0,25% агару та 0,01 М фосфатним буфером, при цьому до нього додавали 0,5 мл густої суспензії клітин з наступною аплікацією агарових блоків діаметром 20 мм, які містили 4-гідроксицинамат, 4-гідроксибензоат та ферулат у концентраціях від 2 мкМ до 4 мМ. Оцінку таксису проводили візуально через 18 год. Вплив цих же фенольних кислот на ріст азоспірил проводили методом культивування азоспірил у рідкому середовищі NFb із додаванням стерильних розчинів фенольних кислот. Стаціонарне культивуання азоспірил проводили впродовж 7 діб при температурі 32$^{o}$C у колбах Ерленмейера (150 см$^{3}$). Приріст азоспірил визначали кожні 24 год шляхом визначення оптичної густини 2 мл суспензії клітин ($A_{590}$) [1].

Визначення характеру росту штаму *Azospirillum brasilense* 410 в умовах стаціонарного культивування у рідкому безазотистому середовищі NFb в присутності 4-гідроксибензоату показало, що в концентраціях 16-32 мкмоль/л він позитивно впливає на ріст бактерій, при цьому приріст числа клітин азоспірил суттєво вищий (на 27%) за контрольний варіант.

Починаючи з концентрацій 256 та 512 мкмоль/л у середовищі культивування відбувалося невелике пригнічення росту азоспірил. У концентрація 8-64 мкМ 4-гідроксицанамат викликав флокуляцію азоспірил. Так, якщо найвищий приріст числа клітин у планктоні був за концентрацій 16 мкМ, то при концентрації 64 мкмоль/л більше відбувалося утворення флокулянту, при чому щільність клітин планктону не змінювалася або, навіть, була нижчою за контроль. Найвище число клітин накопичувалося при концентрації 4-гідроксибензоату 16 мкмоль/л ($5{,}5 \cdot 10^7$ кл/мл) з урахуванням флокулянту. В свою чергу додавання до середовища NFb 4-гідроксибензоату позитивно впливало на приріст планктону азоспірил тільки у високих концентраціях 128-256 мкМ. Так, через 96 годин культивування показники кривих росту азоспірил за цих концентрацій 4-гідроксицинамату були найвищими – $4{,}58 \cdot 10^7$ кл/мл для 128 мкМ та $4{,}36 \cdot 10^7$ кл/мл для 256 мкМ у порівнянні з контролем – $3{,}79 \cdot 10^7$ кл/мл.

Внесення у середовище культивування еквімолярної кількості транс- та цис-ферулату загальною концентрацією від 2 мкМ до 1 мМ впливає на ріст азоспірил майже однотипово у всьому діапазоні концентрацій. На 48 год культивування спостерігається пік росту, через 72 год культивування число клітин у планктоні падає (очевидно, за рахунок флокуляції), а вже на 96 год культивування спостерігається другий пік приросту азоспірил у планктоні. Найбільш оптимальна концентрація ферулату для росту азоспірил становила 16 мкмоль/л, за якої приріст азоспірил у планктоні в середньому на 38 % вищий в порівнянні з контролем. При чому найбільший ефект флокуляції спостерігається за концентрацій 16-32 мкМ.

Аналіз показав, що всі фенольні сполуки, які використовувалися у досліді – 4-гідроксибензоат, 4-гідроксицинамат та ферулат – мають хемоефекторні властивості. Ферулат виступав у ролі хемоатрактанту за концентрацій 4-64 мкМ, тоді як у високих концентраціях – 2-4 мМ – проявляв репелентні властивості. Ефективний хемотаксис до 4-гідроксибензоату відбувався при значно вищих концентраціях – 128-512 мкмоль/л.

Таким чином, можна зробити висновок, що основні фенольні кислоти в кореневих ексудатах злаків – ферулова, 4-гідроксицинамова та 4-гідроксибензойна кислоти є важливим фактором у встановленні асоціації між коренями рослин пшениці із азоспірилами. Оскільки вони беруть участь в процесах молекулярного сигналінгу між рослиною і азоспірилами, що підтверджується даними літератури та отриманими нами даними щодо хемоефекторних властивостей цих кислот, а також їх впливу на динаміку росту азоспірил в умовах культивування у безазотистому середовищі.

**Література:**

1. Чуйко Н.В. Хемотаксис *Bacillus subtilis* к органическим соединениям // Мікробіологічний журнал, 2011. – Т. 73, №3. – С. 39-45.
2. Lopez-de-Victoria G., Lovell C.R. Chemotaxis of asospirillum species to aromatic compounds // Appl. Environ. Microbiol., 1993. – 59, N. 9. – P. 2951-2955.
3. Claudia C. Dal Lago, Cecilia M. Creus, M. Alejandra Pereyra Azospirillum Growth Promotion Is Related to Changes in Ferulate and Dehydrodiferulate Contents in Cell Wall of Inoculated Cucumber Seedlings Hypocotyls // American Journal of Plant Sciences, 2015. – N. 6. – P. 1650-1661.
4. Wu, H., Haig, T., Pratley, J., Lemerle, D., and An, M. Allelochemicals in wheat (*Triticum aestivum* L.): cultivar difference in the exudation of phenolic acids // J. Agric. Food Chem., 2001. – N. 49. – P. 3742–3745.

**Сапунова Л.И., Тамкович И.О., Кулиш С.А., Лобанок А.Г.**
Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

# ДЕЙСТВИЕ ОТДЕЛЬНЫХ ЭКЗОГИДРОЛАЗ *BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS* И ИХ КОМПЛЕКСА НА РАСТИТЕЛЬНОЕ СЫРЬЕ

*The enzyme complex comprising phytase, α-amylase, protease, cellulase, β-glucanase and xylanase of bacterium Bacillus amyloliquefaciens causes synergistic effect on hydrolysis of rye grain biopolymers. The obtained results indicate attractive application prospects of B. amyloliquefaciens enzyme complex for manufacturing composite feed products and foodstuffs of enhanced nutritive value from hardly digestible plant materials.*

**Введение.** В биотехнологии одно из ведущих мест занимает производство ферментных препаратов, рынок которых, как и сфера применения, неуклонно расширяется. Это связано с тем, что ферменты, являясь высокоактивными и высокоспециализированными биокатализаторами, позволяют при небольших затратах усовершенствовать различные биотехнологические процессы, существенно улучшить их показатели и увеличить выход продукции. В полной мере это касается переработки трудногидролизуемого растительного сырья (в частности, ржаного зерна, высокомолекулярные компоненты которого представлены клетчаткой, протеином, крахмалом, фитатом) в продукты функционального питания и корма повышенной питательной ценности. В настоящее время в пищевой промышленности и кормопроизводстве наиболее востребованы комплексные ферментные препараты, содержащие α-амилазу, протеазу, целлюлазу, β-глюканазу, ксиланазу, фитазу и др. гидролазы. Ранее нами отобран штамм *Bacillus amyloliquefaciens*, который в зависимости от условий культивирования продуцирует ферменты, участвующие в деструкции полимеров растительного происхождения, включая фитат и некрахмалистые полисахариды (целлюлозу, гемицеллюлозу, β-глюкан) [1].

**Целью** настоящей работы явилось определение эффективности действия отдельных ферментов (фитазы, α-амилазы, протеазы, β-глюканазы, целлюлазы, ксиланазы) или их комплекса на модельный труднопереваримый субстрат – ржаное зерно.

**Материалы и методы.** Препараты частично очищенных ферментов получали методом ультраконцентрирования фильтрата культуральных жидкостей *B. amyloliquefaciens* через мембрану УПМ-10 («Владипор», Россия), последующего поэтапного фракционирования ферментных белков этиловым спиртом (30 об.% этанола → 50 об.% этанола → 75 об.% этанола в течение 30 мин при 0 $^{o}$C) и растворения осадков в аликвоте соответствующего буфера. Активность ферментов определяли общепринятыми методами [2–5]. При испытании эффективности ферментов измельченное зерно суспендировали в воде в соотношении 1 : 4 (вес/объем), добавляли 0,2 об. % инактивированного (контроль) или нативного (опыт) фермента и инкубировали при 40 $^{o}$C в течение 3 ч. По окончании процесса остатки субстрата осаждали центрифугированием (10 000 g, 30 мин) при комнатной температуре, а в супернатантах определяли белок по Бредфорд, концентрацию редуцирующих веществ (глюкозы и ксилозы) [2], фосфора неорганического ($P_i$) [3]. Приведенные результаты представляют собой средние величины 2–3 опытов, выполненных в 2–3 повторностях.

**Результаты**. Установлено, что наибольший синергический эффект на исследуемый субстрат оказывает ферментный комплекс штамма *B. amyloliquefaciens*, включающий фитазу, протеазу, α-амилазу, β-глюканазу, целлюлазу, ксиланазу (таблица). В этом случае отмечается увеличение выхода продуктов реакций, катализируемых исследуемыми ферментами, – белка (в 1,6 раза), глюкозы (в 7,0 раз), ксилозы (в 10,7 раза), фосфора неорганического (в 7,4 раза). Сопоставимое в сравнении с комплексом гидролаз действие на высвобождение из ржаного

зерна фосфора оказывает фитаза, на выход глюкозы и ксилозы – α-амилаза и ксиланаза. Менее выраженным эффектом в испытанных концентрациях обладают β-глюканаза и целлюлаза. В остальных вариантах опыта содержание ксилозы и фосфора неорганического в ферментативно полученных и водных экстрактах зерна является соизмеримым, тогда как белка и глюкозы – повышается незначительно, всего соответственно в 1,4–1,5 и 1,1–1,3 раза.

Таблица – Эффективность ферментативного гидролиза биополимеров зерна ржи

| Вариант опыта | Относительное содержание в экстрактах ржаного зерна, %: | | | |
|---|---|---|---|---|
| | белка | глюкозы | ксилозы | $P_i$ |
| Контроль (без обработки) | 100,0 | 88,3 | 130,0 | 19,0 |
| Фитаза | 136,1 | 103,4 | 103,8 | 694,7 |
| Протеаза | 145,0 | 133,9 | 106,9 | 111,1 |
| α-Амилаза | 139,2 | 634,4 | 105,2 | 109,5 |
| β-Глюканаза | 143,9 | 284,0 | 114,8 | 107,4 |
| Ксиланаза | 144,2 | 130,8 | 631,3 | 113,7 |
| Целлюлаза | 141,1 | 249,6 | 115,7 | 108,9 |
| Комплекс ферментов | 162,2 | 702,4 | 1065,4 | 741,1 |

**Выводы.** Ферментный комплекс, включающий фитазу, α-амилазу, протеазу, целлюлазу, β-глюканазу и ксиланазу *B. amyloliquefaciens*, оказывает синергический эффект на гидролиз полимеров ржаного зерна, увеличивая по сравнению с контролем выход белка, глюкозы, ксилозы, фосфора неорганического. Это свидетельствует о перспективности использования ферментного комплекса *B. amyloliquefaciens* для гидролиза растительного сырья, богатого фитатом, клетчаткой, крахмалистыми полисахаридами и белком, что находит применение при производстве кормов и продуктов питания повышенной питательной ценности.

**Литература:**

1. Сапунова Л.И., Кулиш С.А., Лобанок А.Г., Тамкович И.О., Шляхотко Е.А., Гайдук А.С., Архипенко А.Г. // Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты : Сборник научных трудов. – Минск: Беларуская навука, 2015. – Т. 7. – С. 253–265.
2. МВИ. МН 3235-2009: Препараты ферментные. Методика выполнения измерений β-глюканазной, ксиланазной, целлюлазной активностей. – Октябрьский, 2009. – 26 с.
3. МВИ. МН 3234-2009: Препараты ферментные. Методика выполнения измерений фитазной активности. – Октябрьский, 2009. – 26 с.
4. ГОСТ 20264.4-89: Препараты ферментные. Методы определения амилолитической активности. – Москва, 1989. – 28 с.
5. ГОСТ 20264.2-88: Препараты ферментные. Методы определения протеолитической активности. – Москва, 1988. – 11 с.

**Сендецький В.М.**
Подільський ДАТУ, Кам'янець-Подільський , Україна

# ЗАСТОСУВАННЯМ ОРГАНІЧНИХ ДОБРИВ І КОМПЛЕКСНИХ ГУМІНОВИХ ПРЕПАРАТІВ, ВИГОТОВЛЕНИХ ЗА НОВІТНІМИ ТЕХНОЛОГІЯМИ ДЛЯ БІОЛОГІЗАЦІЇ ЗЕМЛЕРОБСТВА

*Technology deals with the use of organic fertilizer and humic preparations manufactured on the latest technologies to improve soil fertility, increased production of ecologically clean agricultural products and environmental protection.*

Поліпшення родючості ґрунту, збільшення врожайності сільськогосподарських культур і поліпшення якості продукції рослинництва нерозривно пов'язане з розв'язанням проблеми раціонального та екологічно безпечного використання органічних добрив та біопрепаратів.

Унаслідок зменшення поголів'я тварин ВРХ та зменшення використання торфу для компостів, значно зменшилося виробництво та внесення органічних добрив (з 8,6 т/га у 1990, до 1 т/га у 2015 році). За цих умов землеробство перебуває на критичній межі, за якою призупиняють діяти закони землеробства і супроводжується виснаженням родючих грунтів, зменшенням у них запасів поживних речовин та їх продуктивності, тільки за останні 20 років втрати гумусу на всіх сільськогосподарських угіддях України становлять понад 10% загального його вмісту. Тому для забезпечення бездефіцитного його балансу в ґрунтах необхідно щорічно вносити достатню кількість органічних добрив.

Основним видом органічних добрив в Україні є гній ВРХ, свиней, пташиний послід, частково застосовують як органічне добриво торфокомпости та осади міських стічних вод.

Іншою групою відходів, що використовують як органічні добрива, або як компоненти компостів, є продукти природного розкладання органічних речовин, відходи продуктів рослинництва, лісової та шкірної промисловості, підприємств перероблення сільськогосподарської продукції, а також побутові відходи міст.

Однак, традиційні органічні добрива, мають низку недоліків, які значною мірою зменшують їх ефективність.Вагомими недоліками гною і посліду є такі:значний уміст насіння бур'янів;зараження яйцями і личинками гельмінтів, а також патогенною мікрофлорою.Більшість матеріалів (торф, солома, кора, побутові відходи і ін.) є інертними органічними речовинами і практично не забезпечують приросту врожаю, або навіть зменшують його першого року після внесення.Враховуючи недоліки традиційних технологій використання органічних відходів, а також досвід багатьох країн світу нами розроблено, запатентовано і впроваджуються у виробництво новітні технології застосування органічних добрив "Біогумус", виготовлених методом вермикультивування, "Біопроферм", "Біоактив" методом пришвидшеної біологічної ферментації, комплексних гумінових препаратів, "Вермистим", "Вермимаг", "Вермийодіс" виготовлених методом кавітації, використання соломи з сумісним висіванням культур на сидерат та їх деструкцією "Вермистимом-Д" [1,2,3].

Асоціація «Біоконверсія» (м. Івано-Франківськ) 1989 року уперше в колишньому Радянському Союзі розпочала промислове вермикультивування. За короткий час за сприяння асоціації було створено 360 вермигосподарств, у т.ч. понад 150 в усіх областях України.Однак, продовж 1995-1999 рр., унаслідок непродуманої аграрної реформи, знищення тваринницьких комплексів, важкого фінансово-економічного стану більшість вермигосподарств в Україні та деяких інших країнах припинили своє існування і тільки з 2005 року в Україні розпочато відтворення вермигосподарств, і зараз їх функціонує понад 50 у приватних агропідприємствах та понад 15 тисяч на дачних і присадибних ділянках [3].

Понад 300 вермигосподарств, за розробленими нами технологіями, створено і функціонують у Росії, Білорусі, Казахстані, Молдові, Азербайджані, Вірменії, у країнах Балтії.

Дослідженнями встановлено, що біогумус має різнобічний позитивний вплив на агрохімічні, фізико-хімічні і біологічні властивості ґрунту. В біогумусі акумульована велика кількість макро-

і мікроелементів, які безпосередньо засвоюють рослини. Він містить ростові речовини, вітаміни, антибіотики, 18 амінокислот і корисну мікрофлору. Це добриво пролонгованої дії із синхронним ефектом є новим видом добрив для одержання екологічно чистої продукції, здатне реанімувати ґрунт і знижувати антропогенний вплив на нього.

Дослідження, виконані нами в Україні, а також у США та ін. країнах свідчать про високу ефективність біогумусу. Наприклад, кукурудза дає приріст урожаю 30-50%, пшениця – до 20, цукрові буряки – до 20, картопля – 20-30, овочі – до 70%.

Нами розроблено і впроваджено технології виробництва органічних добрив "Біопроферм", "Біоактив" методом біологічної ферментації, які впроваджені в Львівській, Волинській, Хмельницькій, Івано-Франківській та ін. областях.

За умов гострого дефіциту органічних дорив, дороговизни мінеральних добрив, одним із резервів поліпшення родючості грунтів є використання соломи і сидератів. Однак, солому у даний час мало застосовують, як добриво, часто безгосподарно спалюють на полі, тюкують для спалювання у котлах. А в окремих господарствах подрібнену солому безпосередньо приорюють, але від такого застосування її першого року ефекту не отримують, оскільки солома перегниває, особливо кукурудзяна, упродовж 2-3 років.

Для розв'язання цієї проблеми нами розроблено і запропоновано унікальний препарат-біодеструктор „Вермистим-Д" для оброблення соломи та інших післяжнивних решток після збирання врожаю озимих та ярих культур безпосередньо перед дискуванням. „Вермистим-Д" скеровує процес розкладання у потрібному напрямі: запобігає утворенню токсинів, або нейтралізує їх, пригнічує розвиток патогенів, покращує і пришвидшує процеси гуміфікації та розкладання целюлози, клітковини, лігніну та інших речовин, що входять до складу післяжнивних решток.На відміну від традиційної технології (спалювання або приорювання решток) у запропонованій технології з використанням „Вермистим-Д" не знищуються цінні органічні рослинні рештки, зберігаються корисні живі істоти, які заселяють грунт і забезпечують його родючість, не розвиваються патогенні мікроорганізми та шкідники у ґрунті, ґрунт збагачується органічними речовинами, збільшується його аерація, вологоємність, стійкість до процесів вітрової і водної ерозії, висушування та ін.

Поєднання зеленої маси сидерату (C:N = 20-25:1) і соломи (C:N = 80-100:1) створює у ґрунті сприятливі умови для перебігу процесів розкладання: гальмує втрати азоту у процесі розкладання зеленої маси і пришвидшує – для соломи.

За останні десятиріччя у багатьох країнах світу, у тому числі в Україні, для отримання та виробництва різних гумінових біопрепаратів сільськогосподарського призначення почали використовувати як вихідну сировину вермикомпост (біогумус). У ПП «Біоконверсія» за розробленою нами технологію виробляють регулятори росту «Вермистим», «Вермимаг», «Вермийодіс» та деструктор «Вермистим-Д».Застосуванням їх у технологіях вирощування сільськогосподарських культур створюються сприятливі умови для біологізації, поліпшення родючості ґрунту і розвитку рослин, забезпечується вирощування високих й сталих врожаїв, отримання продукції високої якості та зменшення негативного впливу на навколишнє природне середовище.

Висновок**:** Впровадження новітніх технологій виробництва органічних добрив методом вермикультивування, пришвидшеної біологічної ферментації, комплексних гумінових препаратів, деструкції соломи з одночасним висіванням сидератів сприятиме біологізації та поліпшенню родючості грунтів, збільшенню виробництво екологічно чистої сільськогосподарської продукції та значно пом'якшить техногенний пресинг на навколишнє природне середовище.

**Література**

1. Биоконверсия органических отходов и охрана окружающей среды /под. ред. И. А. Мельник). – Киев, 1996. – 235с.
2. Виробництво та використання органічних добрив (за ред. І.А. Шувара). Івано-Франківськ: Симфонія-форте, 2015 – 596 с.
3. Мельник І.П. Дощові червяки: наукові основи вирощування і практичне застосування. / І. П. Мельник, Н. М. Колісник, І. А. Шувар, В. М. Сендецький та ін.. – Івано-Франківськ, Симфонія-форте, 2015. – 444 с.

**Скороход І.О., Кириченко А.М., Рой А.О.**
Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К.Заболотного НАН України, Київ, Україна

## АНТИВІРУСНА ДІЯ КУЛЬТУРАЛЬНОЇ РІДИНИ *BACILLUS SUBTILIS* ІМВ В-7023 ЩОДО ВІРУСУ ТЮТЮНОВОЇ МОЗАЇКИ НА ЛИСТЯХ ДУРМАНУ

*The culture liquid of Bacillus subtilis IMV B-7023 cultivated in medium with calcium glycerophosphate and glucose has been shown to affect the infectivity of tobacco mosaic virus (TMV). Compounds accumulated in the culture liquid actively reduce infectivity of TMV following incubation with the virus in vitro and promote inhibition of necrosis on the leaves under the preventive treatment of Datura stramonium seeds. In the experiments liquid cultures of bacteria obtained after three days of growing in this medium has essential antiviral properties compared with ones obtained in other terms of growing.*

Вірусні хвороби рослин спричиняють значні економічні збитки у рослинництві. З літературних джерел відомо, що бактерії роду *Bacillus* характеризуються антивірусною активністю [1]. Штам *Bacillus subtilis* ІМВ В-7023 входить до складу комплексного бактеріального препарату для рослинництва і характеризується широким спектром антагоністичної активності до фітопатогенних бактерій і міксоміцетів [2], але його вплив на віруси рослин дотепер заишається не дослідженим.

**Метою** роботи було визначення впливу культуральної рідини *Bacillus subtilis* ІМВ В-7023 на інфекційність вірусу тютюнової мозаїки (ВТМ) в умовах *in vitro* та її антивірусної активності за профілактичної (превентивної) обробки насіння дурману (*Datura stramonium L.).*

**Матеріали і методи досліджень.**

У роботі досліджували культуральну рідину (КР) *B. subtilis* ІМВ В-7023 після вирощування в середовищі з глюкозою та гліцерофосфатом в періодичних умовах на качалці (240 об/хв.) при $28^0$С впродовж трьох діб [2]. КР одержували шляхом відокремлення клітин від середовища на центрифузі ОПН-8 при 6000 g протягом 15 хвилин. Отриману рідину розводили фізіологічним розчином у співвідношенні 1:10 і використовували у дослідах на листках та насінні дурману (*Datura stramonium L.)* в умовах вегетативного будиночку у весняно-літній період.

Досліди *in vitro* проводили додаючи КР до інокулюму ВТМ (0,75 мкг/мл) у співвідношенні 1:1 за 30 хвилин до інокуляції листків дурману, яку здійснювали механічно, обробляючи половинки листків, попередньо опудрених карборундом, інокулюмом чи фізіологічним розчином. Антивірусну дію КР на ВТМ оцінювали за кількістю вірус-індукованих локальних уражень (некрозів), що з'являлись на листках на 5-7 день після інокуляції. Варіанти досліду: 1. Контрольна половина листка дурману інфікована розчином ВТМ (0,75 мкг/мл) + фізіологічний розчин у співвідношенні 1:1. 2. КР після 24 годин росту бактерій в середовищі + розчин ВТМ (1:1). 3. КР після 48 годин росту бактерій в середовищі + розчин ВТМ (1:1). 4. КР після 72 годин росту бактерій в середовищі + розчин ВТМ (1:1).

Досліди з превентивної обробки насіння рослини КР *B. subtilis* ІМВ В-7023 на здатність ВТМ уражувати рослини здійснювали шляхом обробки насіння варіантами КР, одержаної після першої, другої та третьої діб культивування бактерій. КР розводили фізіологічним розчином у співвідношенні 1:10 та використовували для замочування насіння. Оброблене таким чином впродовж 1 години насіння висівали у ґрунт в умовах теплиці. У контрольному варіанті насіння обробляли стерильною водопровідною водою. Через 10-14 днів молоді рослини в стадії 2-3 листків обробляли карборундом та механічно інокулювали поверхню кожного листка ВТМ, який наносили дозовано – 20 мкг на кожен листок. На 4-5 день

рахували кількість ВТМ-індукованих локальних некрозів на інокульованих листках дурману. Результати визначення інфекційності ВТМ, яка виражалась середньою кількістю некрозів на листок, піддавали статистичній обробці [3].

**Результати та їх обговорення**.

Показано, що досліджувані варіанти КР *B. subtilis* ІМВ В-7023 по-різному пригнічували інфекційність ВТМ на листках дурману. Найбільшу активність пригнічення відмічено при використанні у дослідах КР, одержаної після 3-х діб вирощування бацили (53%), а найменшу – при взаємодії ВТМ з КР, яку отримували після 24 годин вирощування бактерій (31%). Із збільшенням часу вирощування бактерій в середовищі (від 24 до 72 годин) збільшувався відсоток пригнічення КР інфекційності ВТМ (31%, 38%, 53%), що свідчить про наявність в КР штаму після трьох діб вирощування сполук, які активно впливають на ВТМ, пригнічуючи його інфекційність.

За обробки насіння дурману КР бацили спостерігали зниження ураженості листків вірусом на 9 – 15,7% в залежності від варіанту досліду. Як і в попередніх дослідах найбільш активною (15,7%) щодо інфекційності ВТМ була КР бактерій, яку отримували після 3-ї доби культивування, а найменшою (9%) КР *B. subtilis* ІМВ В-7023 після першої доби вирощування бактерій в середовищі з глюкозою та гліцерофосфатом. В залежності від часу культивування бактерій в середовищі (від 1 до 3 доби) зростали показники % пригнічення некрозів на листках дурману (11,4%, 12,4% та 15,7%).

Таким чином, при вирощуванні *B. subtilis* ІМВ В-7023 в середовищі з глюкозою та гліцерофосфатом в КР накопичуються сполуки, які активно впливають на зниження інфекційності ВТМ та сприяють пригніченню некрозів на листках рослини при превентивній обробці насіння дурману. Найбільш активною у дослідах була КР, яку одержували після трьох діб вирощування бактерій в такому середовищі.

**Література:**

1. Романенко Н.Д., Попов И.О., Таболин С.Б., Бугаева Е.Н., Заец В.Г. Перспективы использования бактерий-антагонистов против наиболее фитопатогенных нематод, вирусов и грибов. – Агро XXI. – 2008. – №1-3. – С. 23 – 25.
2. Рой А.А., Пасичник Л.А., Церковняк Л.С., Ходос С.Ф., Курдиш И.К. Влияние бактерий рода *Bacillus* на возбудителя бактериального рака томатов. – Мікробіол. журнал. – 2012. – Т. 74, №5. – С. 74 – 80.
3. Молостов А.С. Элементы вариационной статистики. – Киев, 1965. – 184 с.

**Толкачова Н.В.[1], Комаровська-Порохнявець О.З.[2], Марінцова Н.Г.[2], Журахівська Л.Р.[2], Стадницька Н.Є.[2], Баранович Д.Б.[2], Новіков В.П.[2]**

[1]«Нікітський ботанічний сад – Національний науковий центр», Ялта, Крим

[2]Національний університет «Львівська політехніка», Львів, Україна

## РІСТРЕГУЛЮЮЧА АКТИВНІСТЬ СТЕРОЇДНИХ ГЛІКОЗИДІВ ЦИБУЛЬ

*The amounts of steroid glycosides isolated from onion inflorescences of three species as Allium aflatunense Purple Sensation, Allium chrystophii Trautv., Allium schoenoprasum L., have been determined to display high fungicidal and growth-regulating activity. Environmental security and biological activity of the researched compounds can be of interest to be applied in medicine and agriculture.*

Великим класом природних сполук з групи сапонінів є стероїдні глікозиди. Завдяки широкому спектру біологічної активності та екологічній безпеці ці сполуки за останній час все більше привертають увагу дослідників. Крім того, стимуляція росту і фітоімунітету рослин стероїдними глікозидами дозволяє розглядати ці сполуки як природні адаптогени [1,2]. Перспективними з точки зору пошуку сапоніновмісних видів є рослини роду *Allium*, тим більше, що в літературі відсутні дані про стероїдні глікозиди певних видів цибулі. Саме тому дослідження біологічної активності стероїдних глікозидів представників родини *Alliaceae* є актуальним.

В попередніх наших роботах було встановлено, що досліджувані суми стероїдних глікозидів володіють антибактеріальними і фунгіцидними властивостями. Тому, продовжуючи вивчення цих сполук, ми поставили за мету дослідити рістрегулюючу активність сум стероїдних глікозидів, що були виділені з суцвіть трьох видів цибуль: *Allium aflatunense* Purple Sensation (**1**), *Allium chrystophii* Trautv. (**2**) і *Allium schoenoprasum* L. (**3**), які були зібрані на території біосферного заповідника «Асканія-Нова» імені Ф.Е. Фальц-Фейна у 2014 році.

Свіжозібрані та подрібнені суцвіття тричі екстрагували 70%-вим етиловим спиртом. Екстракцію проводили шляхом нагрівання сировини на водяній бані із зворотним холодильником протягом трьох годин. Одержаний екстракт упарювали на роторному випарювачі при 50 °С до водного залишку і послідовно обробляли хлороформом та *н*-бутиловим спиртом. Бутанольний екстракт упарювали. Очистка суміші сапонінів була проведена за допомогою колонкової хроматографії з використанням колонки 100 мм з фазою Supelcoclean C18 (150-200 мкм, Supelco).

Рістрегулюючу активність вивчали за стандартною методикою [3] в модифікації Сергєєвої на агаризованому середовищі, в яке вносили розчин препарату в концентрації 0,0001%, 0,001% та 0,01% і розливали в чашки Петрі; в контрольні чашки вносили еквівалентну кількість розчинника. У досліді використовували насіння однодольної (овес посівний *Avena sativa* L.) і дводольної (крес-салат *Lepidium sativum* L.) рослин, які пророщували на агаризованому середовищі 72 год в термостаті при температурі 22°С з подальшим дорощуванням проростків протягом 96 год у витяжній шафі зі штучним освітленням при 19-20°С. Наприкінці досліду визначали схожість насіння і лінійні розміри частин рослин. Результати представлені у відсотках порівняно з контролем. Статистичну обробку результатів проводили по А.В. Соколовим, середня арифметична похибка не перевищувала ±1,5 % .

Результати досліджень показують, що сполуки **1** і **2** суттєво стимулювали зростання кореня крес-салату у всіх досліджених концентраціях. Зокрема, максимальні показники спостерігалися при дії речовини **1** в концентрації 0,001 % (рістстимулюючий ефект 61%), а

сполука **2** стимулювала зростання кореня на 63% в концентрації 0,0001%. Крім того, спостерігалося пригнічення росту стебла крес-салату (крім сполуки **3** і сполуки **1** в концентрації 0,01%).

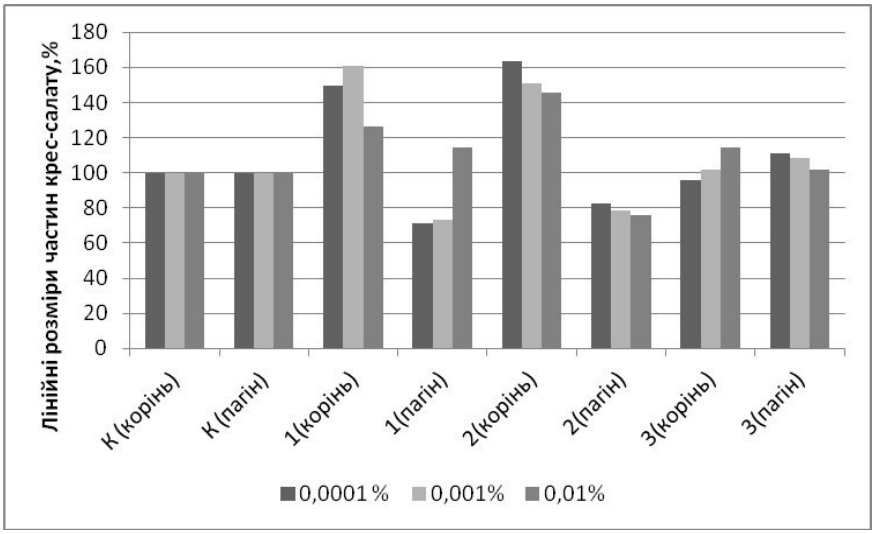



Рис.1. Кількісні показники рістрегулюючої активності сум стероїдних глікозидів суцвіть цибуль: **1** - *Allium aflatunense* Purple Sensation, **2** - *Allium chrystophii* Trautv., **3** - *Allium schoenoprasum* L.; **К** – контроль.

Зростання кореня вівса стимулювали речовини **2** і **3** в концентрації 0,0001% на 14 і 15%, відповідно. При цьому, сполуки **1** і **2** пригнічували ріст стебла вівса у всіх досліджених концентраціях, а при дії речовини **3** в концентрації 0,0001% спостерігався рістстимулюючий ефект на 16%.

Таким чином, суми стероїдних глікозидів, виділених з суцвіть трьох видів цибуль, проявляють рістрегулюючі ефекти з вибірковою дією, що представляє інтерес використання їх у сільському господарстві.

**Література:**

1. Кинтя П.К., Лазурьевский Г.В., Балашова Н.Н., Балашова И.Т., Суружиу А.И., Лях В.А. Строение и биологическая активность стероидных гликозидов ряда спиростана и фуростана. Кишинев, 1987. 142 с.
2. Yang C.-R., Zhang Y., Jacob M.R., Khan S.I. Antifungal activity of C-27 steroidal saponins // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2006. Vol. 50, № 5. P. 1710-1714.
3. А.с. 547203 СССР, МПК7 А 01 N 5/00. Стимулятор роста растений / Ю.В. Карабанов, А.Ш. Брагина, Л.И. Домбровская, М.О. Лозинский, Т.Н. Кудря, П.С. Пелькис, С.С. Кукаленко, А.М. Внуковский, О.В. Вишневский (СССР). – № 2188242/15; заявл. 10.11.75; опубл. 27.05.77, Бюл. № 7.

**Тютюнникова Е.М., Плотникова Т.В.**
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт табака, махорки и табачных изделий», Краснодар, Россия

# ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ РЕГУЛЯТОРА РОСТА *ЭМИСТИМ С* ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ ТАБАКА

*It has been found that 3 hour soaking of seeds before sowing and spraying the seedlings with 0,00001 % water solution of biostimulator in stages of cotyledon and ready for transplanting leads to increasing quantity of standard seedlings and further increasing growth rate during field period. Also leaf area of middle leaves is increased and as the result plant productivity is increased by 5.6 c/ha (23 %).*

Поставленные государством задачи развития экологичного сельского хозяйства, а также с назревшей необходимостью повышения качества и безопасности сельскохозяйственной продукции и в связи с принятием закона «О производстве органической сельскохозяйственной продукции» институтом усилена работа в направлении производства экологически чистого табачного сырья. Табак – пищевкусовая культура и поэтому данная проблема весьма актуальна. Производителям табака предлагается экологически безопасная технология возделывания культуры, основой которой являются высокопродуктивные и устойчивые сорта, современные комплексные органические удобрения, регуляторы роста растений (РРР) природного происхождения, а также биологизированные средства и методы контроля численности за вредными организмами.

Таким образом, в технологическую схему выращивания рассады табака целесообразно включить современный экологически безопасный стимулятор Эмистим С (производитель ГП МНТЦ «Агробиотех» НАН Украины и МОН Украины). Это стимулятор, обладающий биозащитными свойствами, содержащий композицию биологически активных соединений аналогов фитогормонов, аминокислот, жирных кислот, олигосахаридов, хитозана, биогенных и элементов в хелатной форме $K_2O$, Ca, Fe, Cu, B, Mn, Mo, Mg, S, N. Препарат способствует повышению энергии прорастания семян и их полевой всхожести, развитию более мощной корневой системы, увеличению площади листовой поверхности и содержанию хлорофилла, стимулирует устойчивость растений к болезням и снижает негативную нагрузку от применения пестицидов. В основу его действия положен синергитический эффект взаимодействия продуктов биотехнического культивирования грибов корневой системы женьшеня и аверсиктина.

Изучение природного стимулятора роста проведено в течение 2 лет (2014 – 2015 гг.) на экспериментальной базе ВНИИТТИ.

Целью работы являлась оценка влияния регулятора Эмистим С на качество табачной рассады (опыт в рассаднике) и урожайность табака (полевой опыт). Предварительно препарат в лабораторных условиях испытывался в диапазоне концентраций 0,1% - 0,00001% и 0,05 - 0,00005% с экспозициями 1, 3, 6 и 12 часов [1]. Далее исследования проводили при параметрах, проявивших наилучшую эффективность на энергию прорастания семян табака. Отвешенные семена (по 0,3 г), необходимые для посева на 1 $м^2$ парниковой площади, помещали в тканевые мешочки, погружали в водный раствор регулятора роста. Контролем служили семена, замоченные в воде. При появлении на семенах около 60% белых точек семена высевали. Площадь делянки 1 $м^2$, повторность – четырёхкратная. Опыт в рассаднике проводили на длительно несменяемой деградированной питательной смеси. Для объективной оценки эффективности регулятора был создан фон с содержанием подвижных форм азота в субстрате 50% от оптимального. Обработку рассады РРР проводили в фазы

«ушки» и «готовая к высадке рассада» в норме расхода рабочего раствора 1 л/м$^2$ [2]. Для изучения влияния качества рассады, сформированной под влиянием РРР, на урожайность табака растения после выборки чётко по вариантам высаживали из парника в поле.

Исследованиями установлено, что на всех вариантах опыта с использованием испытанного РРР Эмистим С в той или иной степени показатели качества рассады были лучше. Однако наибольшее позитивное влияние на рассаду проявилось на варианте с проращиванием семян в растворе препарата в концентрации 0,00001% и времени экспозиции 3 часа, также с опрыскиванием растений в рассадный период раствором этой же концентрации. Здесь длина рассады до точки роста возросла на 22%, до конца вытянутых листьев на 18%, сырая масса стеблей 25 растений на 50%, корней на 31%. С данного варианта выбрано наибольшее количество стандартных растений с единицы площади - 917 шт./м$^2$, что превысило контроль на 224 растения (32%). Препарат проявил и антипатогенное действие, позволив снизить поражение табака рассадными гнилями.

Положительное ростостимулирующее действие препарата, проявленное ещё в рассадный период, продолжало выделять растения, обработанные биостимулятором, по всем биометрическим показателям вегетационного периода. Такие растения табака уже на начальном этапе роста, т.е. через 30 дней после посадки по высоте на лучшем варианте опыта превышали контроль на 18%, в фазу интенсивного роста (60-й день после высадки) разница по в сравнении с контролем составила 24%, к концу уборочного периода эта тенденция сохранилась.

Существенное увеличение площади листьев среднего яруса (на 48%) отмечено на уже хорошо зарекомендовавшем себя варианте с предпосевным замачиванием семян в растворах препарата 0,00001% (3 часа) и дополнительным двукратным опрыскиванием рассады в самые ответственные этапы её развития.

Таким образом, проведённые испытания природного регулятора роста растений Эмистим С при выращивании табака в течение двух лет в центральной зоне Краснодарского края позволили выделить эффективную концентрацию водного раствора для замачивания семян перед посевом - 0,00001 (при экспозиции 3 часа), а также для обработки растений при выращивании рассады в фазы «ушки» и «готовая к высадке рассада», при этом отмечается стимуляция роста и развития рассады, что в конечном итоге за счёт её лучшего качества приводит к росту урожайности табака на 5,6 ц/га (23%).

Авторы выражают глубокую благодарность директору ГП МНТЦ «Агробиотех» НАН Украины и МОН Украины С.П. Пономаренко за предоставленный для испытаний препарат.

**Литература**:

1. Плотникова Т.В., Алёхин С.Н., Саломатин В.А. Методическое руководство по изучению эффективности применения регуляторов роста растений при проращивании семян табака / ГНУ ВНИИТТИ, Краснодар, 2013. - 29 с.
2. Алёхин С.Н., Плотникова Т.В., Саломатин В.А. [и др.]. Методическое руководство по проведению агротехнических опытов с табаком в рассадниках / ГНУ ВНИИТТИ, Краснодар, 2013. – 27 с.
3. Алёхин С.Н., Саломатин В.А., Исаев А.П., Рудомаха В.П., Плотникова Т.В. [и др.]. Методическое руководство по проведению полевых агротехнических опытов с табаком (*Nicotiana tabacum* L.) / ГНУ ВНИИТТИ, Краснодар, 2011. - 42 с.

**Kharchuk M.S., Gromozova E.N.**
Danylo Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of NAS of Ukraine, Kiev, Ukraine

## RELATION BETWEEN MOTILITY OF VOLUTIN GRANULES AND PHOSPHORUS METABOLISM IN YEAST *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

*In this work, relation between volutin granule motility ("dancing bodies") and phosphoric metabolism in yeast Saccharomyces cerevisiae (S. cerevisiae CRY and CNX) was studied. Polyphosphatase activity and "dancing bodies" index under normal conditions of cultivation and under conditions of phosphoric starvation and hypercompensation were analyzed. It was found that volutin granule motility correlated better with polyphosphatase activity of strain S. cerevisiae CNX, which lack exopolyphosphatases PPX1 and PPN1 and has unknown vacuolar polyphosphatase, in all conditions of cultivation. Thus, it is suggested that "dancing bodies" may be related with phosphoric metabolism. It is quite possible that further study of "dancing bodies" index can be recommended for indication of processes associated with phosphorus removal in wastewater by microorganisms of activated sludge.*

One of the most urgent problems of biological treatment of wastewater is phosphorus removal (Enhanced Biological Phosphorus Removal, EBPR).The microorganisms of activated sludge accumulate inorganic polyphosphates mostly as volutin granules [1]. However, the matter of functional features of these structures and its participation in polyphosphate metabolism is poorly understood. The goal of this work was study of relation between motility of volutin granules ("dancing bodies") and phosphorus metabolism.

The yeast strains *S. cerevisiae* CRY (parental strain) and *S. cerevisiae* CNX (mutant strain, which lack exopolyphosphatases PPX1 and PPN1 (CF 3.6.1.11) and has unknown vacuolar polyphosphatase [2]), were used in this work. The yeasts cultivated at $28^0$C on Rider's media with phosphorus and without it. "Dancing bodies" were fixed by luminescent microscopy using fluorescent dye 4',6-diamidino-2-phenilindol dihydrochloride (DAPI). The amount of cells with "dancing bodies" (index of "dancing bodies") was presented as a percentage of all cells with volutin granules. Determination of polyphosphatase activity was carried out by the method, described in the work of Pestov et al. [3].

Yeast *S. cerevisiae* CRY and *S. cerevisiae* CNX, which were cultivated on media with balanced phosphorus content, had the maximal amount of cells with motile volutin granules in the phase of diminishing growth. A sharp decline of "dancing bodies" index was observed under the condition of the phosphorus starvation. However, under condition of hypercompensation, the amount of cells with motile volutin granules increased (to 40-50%) in start of log-phase. After start of log-phase "dancing bodies" index reduced to 10-14%.The motility of volutin granules correlated better with exopolyphosphatase activity of mutant strain *S. cerevisiae* CNX under different conditions of cultivation. It is assumed that vacuolar polyphosphatase participate in the motility of volutin granules, because it is the only polyphosphatase in strain *S. cerevisiae* CNX.

The obtained results can suggest the relation of the motility of volutin granules to phosphorus metabolism in yeast cells. It is possible that further study of "dancing bodies" index may be recommended for indication of processes associated with phosphorus removal in wastewater by microorganisms of activated sludge.

**References**

1. Serafim L.S., Lemos P.C., Levantesi C., Tandoi V., Santos H., Reis M.A.M. Methods for detection and visualization of intracellular polymers stored by polyphosphate-accumulating microorganisms // Journal of Microbiological Methods. – 2002. – 51. – P. 1-18.
2. Lichko L., Kulakovskaya T., Pestov N., Kulaev I. Inorganic polyphosphates and exopolyphosphatases in cell compartments of the yeast Saccharomyces cerevisiae under inactivation of PPX1 and PPN1 genes // Biosci. Rep. – 2006. – 26. – P. 45-54.
3. Pestov N.A., Kulakovskaya T.V., Kulaev I.S. Effects of inactivation of the ppn1 gene on exopolyphosphatases, inorganic polyphosphates and function of mitochondria in the yeast Saccharomyces cerevisiae // FEMS Yeast Research. – 2005. – V.5. – P.823-828.

**Хуршкайнен Т.В.[1], Шершунова О.Н.[2], Лобанов А.Ю.[2]**
[1] Институт химии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия
[2] НИИСХ Республики Коми Россельхозакадемии, Сыктывкар, Россия

## ВЛИЯНИЕ БИОПРЕПАРАТА ВЭРВА НА УРОЖАЙНОСТЬ СЕНОКОСНЫХ ТРАВ

*It found that treatment of plant growth Verva by spraying during earing cereal and legume budding at 200 ml / ha in combination with mineral fertilizers $N_{30}P_{45}K_{45}$, productivity increases of 115% hay and improves its quality.*

В условиях Европейского Северо-Востока почвы речных пойм имеют большое народнохозяйственное значение как естественная кормовая база для животноводства. В результате гидростроительства на реках, распашки пойменных почв, их мелиорации и химизации, произошло снижение продуктивности и деградация естественных лугов. Обеднение почвы ведет к снижению ботанического разнообразия, кормового качества луговых сообществ. Поэтому вопросы повышения производительности луговых угодий актуальны.

Существуют разнообразные способы повышения продуктивности естественных лугов. Это применение минеральных удобрений и микроэлементов в разных дозировках, органических удобрений, фитогормонов, биологически активных веществ. Цель данных исследований - установить эффективность использования экологически безопасного регулятора роста растений Вэрва. Биопрепарат Вэрва – торговое название препарата, производимого ООО «НТП Института химии Коми НЦ УрО РАН». Препарат получен эмульсионным способом извлечения низкомолекулярных компонентов из хвои пихты [1].

Полевые деляночные испытания проведены в 2011 – 2013 гг. в Республике Коми в пойме реки Сысола. Почва опытного участка дерново-подзолистая, супесчаная. Повторность опыта четырехкратная. Температурные условия в годы проведения исследований в целом были характерны для Республики Коми. Полевые опыты были проведены по схеме:.

1 - контроль – без внесения удобрений.
2 – $N_{30}P_{45}K_{45}$ (фон) при норме расхода 45 кг/га.
3 - $N_{30}P_{45}K_{45}$ + Вэрва
4 – Вэрва

После схода паводковых вод, в период активного отрастания луговых трав, путем некорневой подкормки вносили минеральные удобрения $N_{30}P_{45}K_{45}$. Затем, в период колошения злаковых и бутонизации бобовых, растения обрабатывали раствором биопрепарата Вэрва путем опрыскивания в дозе 200 мл/га при концентрации препарата 10 г/л, норма расхода рабочей жидкости - 300 л/га.

В результате проведенных опытов установлено, что наболее значительное увеличение урожайности получено при обработке растений биопрепаратом Вэрва в комплексе с минеральными удобрениями (табл.1). Такое совместное действие позволило получить урожай сена 2,8 т/га, что на 1,5 т/га выше контроля.

Таблица 1 Влияние биопрепарата Вэрва на урожайность сена

| Вариант | Урожайность сена, т/га | В % к контролю |
|---|---|---|
| Контроль (без удобрений) | 1,3 | 100 |
| $P_{45}K_{45}N_{30}$ (фон) | 2,3 | 177 |
| Фон + Вэрва | 2,8 | 215 |
| Вэрва | 1,6 | 123 |
| $НСР_{0,5}$ | 0.6 | |

Использование препарата Вэрва в сочетании с минеральными удобрениями также привело к повышению качества сена. Увеличение кормовых единиц повысилось на 120%, содержание сырого протеина на 20% сбора обменной энергии на 135% по сравнению с контролем (табл. 2).

Таблица 2.

Влияние биопрепарата Вэрва на качество сена

| Вариант | Сбор обменной энергии, ГДж/га | Кормовые единицы, тыс. | Содержание сырого протеина в сухом веществе, % |
|---|---|---|---|
| Контроль (без удобрений) | 13,1 | 1,0 | 8,6 |
| $P_{45}K_{45}N_{30}$ (фон) | 24,5 | 1,8 | 10,8 |
| Фон + Вэрва | 30,8 | 2,2 | 10,3 |
| Вэрва | 16,6 | 1,3 | 8,4 |
| $НСР_{0,5}$ | 5.44 | 0.3 | 2.2 |

Таким образом, наиболее оптимальным вариантом использования биопрепарата Вэрва на луговых травах является совместное применение минеральных удобрений путем внекорневой подкормки и биопрепарата опрыскиванием [1]. Предлагаемый способ позволяет повысить продуктивность лугов сена на 115% и улучшить его качество.

**Литература:**

1. Хуршкайнен Т.В., Кучин А.В. Лесохимия для инноваций в сельском хозяйстве // Известия Коми научного центра Уро РАН. 2011. № 1. - С. 17-23.
2. Патент RU 2582989. Способ повышения урожайности естественных сенокосов./ Хуршкайнен Т.В., Шершунова О.Н., Лобанов А.Ю., Каракчиева Е.Ф., Беляева Р.А., Кучин А.В., Чукичев В.М. заявл.08.04.2015. опубл. 27.04.2016. БИ №12.

**Центило Л.В., Журба М.А., Волкогон В.В.**
Институт сельскохозяйственной микробиологии и агропромышленного производства НААН, Чернигов, Украина

## МИКРОБНЫЕ ПРЕПАРАТЫ В СИСТЕМАХ УДОБРЕНИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР

*The effectiveness of microbial preparations are highest when growing of agricultural crops on physiologically appropriate agricultural background. Here the action of introduced microorganisms in the biocenosis on agricultural crops productivity is equivalent to 30-60 kg/ha of mineral nitrogen and 20-40 kg/ ha of phosphorus. Application of biologics at high agricultural background inappropriate. The effectiveness of preplant bacterization is leveled by at entering the manure in the soil and significantly increases on the background of green manures.*

Сегодня уже не вызывает сомнений эффективность применения микробных препаратов, созданных на основе селекционированных штаммов микроорганизмов, в технологиях выращивания сельскохозяйственных культур. Интродуцированные в агроценозы бактериии микромицеты способны активно колонизировать корни растений, доминировать в сообществе микроорганизмов корневой зоны, вследствие этого влиять на динамику биологических процессов трансформации соединений биогенных элементов и усвоение растениями питательных веществ, ограничивать развитие возбудителей отдельных заболеваний культурных растений и др., что в целом положительно влияет на продуктивность агроценозов. Коррекция состава сообществ микроорганизмов корневой зоны растений особенно важна при выращивании сельскохозяйственных культур на деградированных почвах.

Следует отметить, что реализация потенциала такого агроприема как предпосевная инокуляция семян лимитируется рядом биотических и абиотических факторов. Среди них одним из наиболее важных является обеспечение рекомендованных агрофонов.

Нашими исследованиями, проведенными в условиях полевых стационарных опытов на разных типах почв, показано, что эффективность биопрепаратов в наибольшей степени проявляется при выращивании сельскохозяйственных культур по физиологически целесообразных агрофонах. При этом оптимизируются процессы азотфиксации, фосфат мобилизации, уменьшается эмиссия $N_2O$ и $CO_2$, увеличиваются коэффициенты усвоения растениями действующего вещества из удобрений. При избыточном внесении минеральных удобрений интродуцированные в агроценоз микроорганизмы не выполняют ожидаемых функций. Более того, например, азотфиксирующие бактерии не осуществляют процесс азотфиксации, усваивают связанный азот, при этом реализуют функции денитрификаторов. Следствием этого являются значительные потери газообразных соединений азота. Таким образом, применение микробных препаратов в этих условиях нежелательно.

Физиологически целесообразные агрофона определяются по показателям биологического тестирования, в частности, при изучении в динамике активности процесса азотфиксации и биологической денитрификации в системе «почва - растение». При этом азотфиксирующая активность не должна быть ниже контрольных показателей (варианта без внесения удобрений), а эмиссия закиси азота – существенно превышать активность контроля. Разработана соответствующая методика, позволяющая на протяжении вегетационного периода определить необходимые параметры норм азотных удобрений. Фосфорные и калийные удобрения рассчитываются по известному принципу сбалансированности по отношению к азотным. Физиологические оптимумы агрофонов, безусловно, отличаются в зависимости от типа почвы и сельскохозяйственной культуры, однако обобщение

результатов многолетних исследований дает возможность утверждать, что для пшеницы озимой, ржи озимой, ячменя ярового и овса количество минерального азота, внесенного дробным способом, не должно превышать 60 кг/га, для кукурузы – 80 кг/га, картофеля и рапса– 90 кг/га, многолетних злаковых трав – 80 кг/га. Оптимальной нормой азотного удобрения зернобобовых является 30-60 кг/га в зависимости от культурыи типа почвы.

Применение микробных препаратов в сочетании с физиологически целесообразной системой удобрения в технологиях выращивания сельскохозяйственных культур дает возможность существенной экономии средств. В этих условиях действие предпосевной бактеризации на продуктивность культур эквивалентно влиянию 30-60 кг/га минерального азота и 20-30 кг/га фосфора. Столь высокие показатели объясняются комплексом причин, среди которых, в первую очередь следует выделить увеличение коэффициентов использования растениями действующего вещества из удобрений за счет усиления поглотительной способности корневой системы инокулированных растений, а также более интенсивным вовлечением питательных веществ в конструктивные метаболические процессы вследствие активизации растительных ферментных систем. При этом улучшаются экологические показатели почв. Улучшается также качество продукции – увеличивается содержание белка, свободных аминокислот, клейковины в зерне.

Микробные препараты не могут обеспечить высокую эффективность при выращивании сельскохозяйственных культурна фоне внесения навоза. Это объясняется тем, что с навозом поступает огромное количество микроорганизмов, при этом осуществляется неспецифическая бактеризация почвы. В этих условиях формирование эффективных растительно-бактериальных ассоциаций довольно проблематично, а иногда и невозможно. Последействие навоза (на второй-третий годы) не влияет на способность интродуцированных микроорганизмов колонизировать корневые сферы культурных растений и положительно влиять на продукционный процесс сельскохозяйственных культур.

Эти наблюдения свидетельствуют о необходимости соблюдения определенных рекомендаций относительно использования биопрепаратов, в том числе и в органическом производстве сельскохозяйственной продукции.

В то же время, применение микробных препаратов на фоне внесения в почву массы сидеральных культур обеспечивало в наших опытах наиболее высокие показатели активности процессов азотфиксациии фосфат мобилизации, и самые низкие - эмиссии $N_2O$. Вероятно, что в этих условиях потребности в углероде интродуцированных в агроценоз микроорганизмов обеспечиваются не только за счет корневых экссудатов, но и массы зеленых удобрений, которая, в отличие от навоза, менее контаминирована.

Научно обоснованное применение микробных препаратов в технологиях выращивания сельскохозяйственных культур, учитывающее особенности систем удобрения в севообороте и реакцию интродуцированных в агроценоз микроорганизмов на агрофоны, позволит увеличить эффективность аграрного производства и улучшить состояние окружающей среды.

**Чекалов В.А., Волкова Н.Е.**
Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннєзнавства та сортовивчення, Одеса, Україна

## МОЛЕКУЛЯРНА ІДЕНТИФІКАЦІЯ ЗБУДНИКА ФУЗАРІОЗНОГО В'ЯНЕННЯ НУТУ ЗВИЧАЙНОГО (*CICER ARIETINUM* L.)

*Chickpea (Cicer arietinum L.) is an important source of high quality protein for the people of many countries of the world. The main factor limiting chickpea production worldwide is Fusarium wilt, caused by the fungus Fusarium oxysporum f. sp. ciceris. The aim of this work is to develop (validate) the system of molecular markers for the detection of the pathogen, which causes Fusarium wilt of chickpea. It is shown that the testing of the marker on the model system, determinating the sensitivity of the reaction and introducting the elements of test system, which eliminates the false-negative result, allows to develop an effective system for rapid assessment of chickpea seeds and by-products for the presence of the fungus F. oxysporum f. sp. ciceris.*

Нут звичайний (*Cicer arietinum* L.) є важливим джерелом високоякісного протеїну для широких верств населення Південної та Західної Азії, басейну Середземного моря та країн Ближнього Сходу. Ця культура відіграє важливу роль в системах землеробства в сівозмінах зернових культур. До того ж нут досить посухостійкий та може без втрат переносити затримки із збиранням (Бушулян, Січкар, 2009).

Головним чинником, що обмежує виробництво нуту в усьому світі, є фузаріозне в'янення, викликане грибом *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. Для цього збудника характерним є довгий період існування в ґрунті та висока патогенна мінливість (існування восьми рас, які приводять до розвитку двох різних синдромів – синдрому пожовтіння (англ. *yello wing*), який викликається расами 0, 1B/C, та синдрому в'янення (англ. *wilting*), який викликається расами 1A, 2, 3, 4, 5, 6 (Jimenez-Díaz etal., 2015). Створення та впровадження у виробництво високоврожайних сортів нуту, стійких до певної патогенної раси в даному регіоні, та використання насіння, сертифікованого як вільне від *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*, є економічно ефективною мірою регулювання захворювання та збереження врожаю цієї культури. Сучасним надійним експрес-підходом до детекції збудників фітозахворювань є їх ідентифікація за допомогою молекулярних маркерів.

Мета даної роботи полягає у розробці (валідації) системи молекулярних маркерів для детекції збудника фузаріозного в'янення нуту.

Матеріали і методи. Матеріалом слугували вісім штамів *F. oxysporum* f. sp. *ciceris,*шість штамів *F. sporotrichiella* та два штами *F. solani*, які люб'язно надані завідувачем відділу фітопатології та ентомології СГІ-НЦНС д.б.н. Бабаянц О.В. як чисті культури на картопляно-сахарозному агарі.

Виділення ДНК з міцелію провадили за методикою Mölleretal. (1992). Концентрацію та ступінь очищення зразків визначали наспектрофотометрі NanoPhotometer™(Implen, Німеччина). Суміш для полімеразних ланцюгових реакцій (ПЛР) містить 1х буфер DreamTaqBufferз 2,0 mM $MgCl_2$(ThermoScientific, США), по 0,2 mM кожного дНТФ, по 0,2 mkM кожного праймера, 0,02-20 нг ДНК, 1 одиницю активності ДНК-полімерази DreamTaq. Режим ПЛР: 2 хв 94 °С; 28 циклів: 30 сек 94 °С, 1 хв 58 °С, 30 сек 72 °С; 4 хв 72 °С. Дизайн праймерів (5'-3'): Foc0-12f ggcgtttcgcagccttacaatgaag, Foc0-12r gactccttttttcccgaggtaggtcagat (Jiménez-Gasco etal., 2003). Постановка ПЛР - в термоциклері T100™ThermalCycler (Bio-Rad, США). Електрофоретичний розподіл продуктів ампліфікації - в 1,5 % «підводних» агарозних гелях на приладі для горизонтального електрофорезу PerfectBlue™ Gel System (Peqlab, Німеччина).

Результати. Для детекції *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* в насінні нуту, продуктах його переробки та інших об'єктах (зокрема в ґрунті) обрано молекулярний маркер Foc0-12, створений на основі фрагменту ампліфікації, який отриманий при RAPD-аналізі (RandomamplifiedpolymorphicDNA) та присутній з достовірною частотою у фінгерпринтах усіх рас *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* (Jiménez-Gasco et al., 2003). Присутність ДНК гриба визначається наявністю фрагменту ампліфікації розміром 1503 п.н.

Першим етапом є опрацювання маркеру на модельній системі – ДНК гриба без присутності інших геномів. Для цього провадиться ПЛР-аналіз зразків ДНК, виділеної з міцелію 16 штамів *Fusarium*spp., а також ДНК нуту (сорт SONA) для підтвердження специфічності маркеру. 1503 п.н.-фрагментампліфікації має бути присутній в усіх зразках грибної ДНК та відсутній в зразку ДНК нуту.

Встановлення чутливості маркера, тобто його спроможності детектувати ДНК гриба на фоні ДНК нуту, концентрація якої рівна або перевищує грибну в 10-1000 разів, є другим етапом даного дослідження. Для цього необхідно створити суміші ДНК фузаріуму та нуту в таких співвідношеннях: 1:1; 1:10; 1:100; 1:1000.Наступний етап перевірки специфічності та чутливості даного маркеру - детекція грибної ДНК в багатокомпонентній (більше двох компонентів) системі, зокрема, у харчових продуктах з нуту, ґрунті. Так, можливо припустити, що, наприклад, у консервованому хумусі присутні такі об'єкти біологічного походження, як оливкова олія, кунжут, лимон та паприка,а в ґрунті є інші мікроорганізми, гриби *etc*.

Важливою складовою маркерної системи є наявність елемента, який виключає псевдонегативний результат, тобто підтверджує успішне виділення ДНК гриба та її якість для проходження ПЛР. Дизайн більшості праймерів, сконструйованих для видо- і родоспецифічної детекції патогенів, розроблено на основі варіабельності послідовностей в регіонах внутрішніх транскрибованих спейсерів (ВТС) ядерної рибосомної ДНК (рДНК). Регіони багатокопійної рДНК, які включають ВТС, придатні для ампліфікації в ПЛР і містять ділянки, які значно різняться за швидкістю молекулярної еволюції. Нами обрано маркер регіонів ВТС1 і ВТС2рДНК *Fusarium* spp., ампліфікація яких призводить до фрагменту розміром 431 п.н. і свідчить про наявність грибної ДНК на рівні роду *Fusarium* (Bluhmetal., 2004). Цей маркер буде використано в дуплексній ПЛР для одночасного детектування *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* та виключення псевдонегативного результату.

**Література**

1. Бушулян О. В., Січкар В. І. Нут: генетика, селекція, насінництво, технологія вирощування: Монографія. – Одеса, 2009. – 248 с.
2. Bluhm B., Flaherty J., Cousin M., Woloshuk C. Multiplex polymerase chain reaction assay for the differential detection of trichothecene- and fumonisin-producing species of *Fusarium* in cornmeal // J. Food Protect. – 2004. – Vol. 65. – P. 1955-1961.
3. Jimenez-Díaz R., Castillo P., Jimenez-Gasco M., LandaB.,Navas-Cortes J. Fusarium wilt of chickpeas: Biology, ecology and management // Crop Protection. – 2015. – Vol. 73. – P. 16-27.
4. Jiménez-Gasco M., Jiménez-Díaz R. Development of a specific polymerase chain reaction-based assay for the identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* and its pathogenic races 0, 1A, 5, and 6 // Phytopath. – 2003. - Vol. 93, No. 2. - P. 200-209.
5. Möller E. M., Bahnweg G., Sandermann H., Geiger H.H. A simple and efficient protocol for isolation of high molecular weight DNA from filamentous fungi, fruit bodies, and infected plant tissues // Nucl. Acids Res. – 1992. – Vol. 20, No. 22. – P. 6115-6116.

**Швед О.М, Петріна Р.О., Яремкевич О.С., Сидорова Т.Б., Швед О.В., Новіков В.П.**
Національний університет «Львівська політехніка», кафедра Технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології, МОН України, Львів, Україна

## ПЕРСПЕКТИВА ЗАСТОСУВАННЯ БІОІНДИКАТОРНИХ КОМПОНЕНТІВ БІОІНЖЕНЕРНИХ СТАВКІВ

*A comparative analysis of alternative biological and biotechnological methods based on microfloral symbiosis: phyto, bakterio-, zoo plankton and benthos, and especially anamoks bacteria and higher aquatic plants, phytocoenosis, and their self-restoration in the next cycle of vegetation. Integrated individual adjustment treatment systems were used with bioengineered phyto-remediation supply (BS) for bio safe restoration of the biological balance of aquatic ecosystems.*

**Вступ**. Аналітичний аналіз даних сучасного підходу до біобезпечного використання водних біоресурсів при скиданні стічних побутових відходів показав, що в масштабі малих міст з врахуванням економічних та кліматичних умов України, при використанні високотехнологічних та близьких до природних технологій очищення побутових стічних вод найбільш перспективною для застосування є технологія біоінженерних ставків з горизонтальним підповерхневим потоком стічних вод. Власне в Україні з 1984 року розпочалися розроблення понад 200 проектів БіоС - біоінженерних очисних споруд (наукова група Захарченко М.А.), і з 1998 року - біоінженерних споруд типу Constructed Wetlands. Проте для даних споруд необхідним є підвищення ефективності видалення сполук азоту з побутових стоків, що сприяло би поліпшенню екологічного стану довкілля в регіоні.

**Метою дослідження** було застосування мікробіологічних досліджень в тому числі ДНК-аналізів для вивчення процесу біоочищення шляхом комплексного застосування біоремедіантів - мікробного ремедіанту “Анамокс-бактерій” та фіторемедіантів вищих рослин та розроблення загальної схеми очищення.

Розробляється пілотна система очищення на основі БІОС за принципами сталого розвитку. Розглядається можливість використання отриманої у процесі очищення біомаси ВВР у якості палива для когенераційних установок з одержанням електричної та теплової енергії. Технологічна схема враховує внесення біокомплеку та застосування фіторемедіації забруднень на біоінженерних ставках для умов стічних вод невеликого населеного пункту малих міст України.

В **результаті** виконання циклу обробки води біокомплексом анамокс бактерій (інтактних та іммобілізованих) спостерігалося підвищення прозорості води і вмісту розчиненого кисню, зниження показників очищення (ХСК та БСК), вмісту завислих речовин. Фосфатів, нафтопродуктів, показники вмісту заліза загального, нітритів, нітратів, хлоридів і сульфатів. На основі результатів ПЛР-РЧ встановлено, що в усіх досліджуваних зразках біоплівки, кількість генів анамокс бактерій значно переважала над кількістю генів аеробних амоній окиснюючих та інших груп бактерій, котрі здатні до трансформації сполук азоту ( у загальній популяції еубактерій у біоплівці на поверхні гравію у фільтрувальній товщі для пілотних установок з ВВР частка анамокс бактерії становила 18,5 ± 6,0 % для усього періоду експерименту).

Змонтовано та запущено експериментальну лабораторну установку для дослідження процесів усунення амонію у біологічних ставках, що складалася з: трьох PFR (Planted Fixed-bed Reactor) реакторів, а для одержання збагаченої культури анамокс бактерій здійснено перезапуск анаеробного збагачувального реактора та опрацьовано і запропоновано використання методики відбору проб з PFR реакторів для аналізу мікробних асоціацій та методики ізолювання ДНК.

Аналіз літературних джерел ряду високотехнологічних та близьких до природних технологій очищення побутових стічних вод встановлено, що найбільш перспективною для застосування в масштабі малих міст, з врахуванням економічних та кліматичних умов України, є технологія біоінженерних ставків з горизонтальним підповерхневим потоком стічних вод.

**Література:**

1. Shved O.M. Biotechnology of ammonium-rich wastewater treatment in constructed wetlands / Shved O.M., Kuschk P., Novikov V.P. // Сучасні досягнення фармацевтичної технології: Матеріали IV н-п. конф. з міжн. уч.- Харків, 2014. – Х.: Вид-во НФаУ,– С. 18.
2. Гвоздяк П.І., Михайловська М.В. Порівняльний аналіз методів біологічного очищення стічних вод від сполук азоту // Наукові вісті НТУУ «КПІ». - 2007. - №2. -С.109-117.
3. М.А.Захарченко, канд. техн. наук (УКРНДІЕП).Біоінженерні споруди (біс) для очищення побутових стічних вод.
4. Видринська О.К. Біоочищення стоків згідно принципів сталого розвитку / О.К. Видринська, О.М. Швед, З.В. Губрій, В.П. Новіков // Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології : Зб. наук. праць IX з'їзду УТГіС -Алушта, 2012 р.– К.: Логос, 2012. – Том 4. – С. 447 – 451.
5. Shved O. Enhancing efficiency of nitrogen removal from wastewater in constru-cted wetlands / O. Shved, R. Petrina, V. Chervetsova, V. Novikov // Східно-Європейський журнал передових технологій. – 2015. – № 3/6(75). – С. 63–68.

**Шелеп Т.В.[1], Бабицький А.І.[1], Даниленко С.Г.[2], Безсмертна О.О.[3], Бойко О.А.[1]**
[1]Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ, Україна
[2]Інститут продовольчих ресурсів НААН, Київ, Україна
[3]Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

## ОСОБЛИВОСТІ МІКРОБІОЛОГІЧНОГО СКЛАДУ АВТЕНТИЧНОЇ ЗАКАРПАТСЬКОЇ БРИНЗИ

*Microorganism compound of abomasum and authentic Transcarpathian brynza cheese with different terms of holding were investigated. It was found, that the level of pollution by harmful microflora was high enough and the adventive microorganisms were present in 0,0001 gram of the product.*

*Бринза* – найпопулярніший вид сиру в Карпатах, який не відноситься до розсільних сирів, бо не дозріває і не зберігається в розсолі. Цей вид бринзи зазвичай виготовляється на вершинах карпатських полонин. Технологія виробництва бринзи на карпатських полонинах була розроблена ще з прадавніх часів і до сьогодні майже не змінилася. Проціджене молоко заквашують спеціальною закваскою з молока звурдженого у шлунку ягнят, які ще не паслися. Діжки з молоком ставлять поруч із вогнем поки не почнуть зя'влятися згустки сиру, які в подальшому руками збирають у більші грудки. Ці грудки сиру підвішують у теплому місці. Утворюється "напівфабрикат" бринзи - будз. Після 3-денного витримування при температурі 19-22 $^{o}$C його дрібно перетирають з сіллю і зберігають у дерев'яних бочках вже бринзу.

**Мета роботи:** дослідити мікробний склад сичуга та автентичної закарпатської бринзи різного терміну зберігання.

**Об‘єкти досліджень**: характерні для бринзи групи мікроорганізмів: молочнокислі бактерії, біфідобактерії та пропіоновокислі бактерії.

**Методи досліджень***: м*ікробіологічні аналізування та визначення фізико-хімічних показників здійснювали стандартними методами [1]. Повторюваність дослідів триразова.

Загальну чисельність молочнокислих бактерій визначали на традиційних для цих досліджень середовищах: гідролізований агар та МРС, кількість мезофільних лактококів – на середовищі Реді, лактобацил – МРС. Кількість біфідобактерій визначали на молочно-гідролізатному середовищі з додаванням комплексу антибіотичних сполук ННЛП, пропіоновокислих бактерій – на лактатному середовищі.

Температура та тривалість інкубації посівів: - для мезофільних бактерій - (30 ± 1) °С, 72 год; - термофільні бактерії – (37 ± 1) °С, 72 год.

**Результати досліджень**

Дослідження мікрофлори продуктів проводили у двох напрямах: заквашувальна та санітарно-показова. Склад мікрофлори бринзи та сичуга подано у таблиці 1.

Таблиця 1. Склад мікрофлори бринзи та сичуга

| Мікрофлора | Вміст | | |
|---|---|---|---|
| | Бринза (4 місяці зберігання) | Бринза (7 місяців зберігання) | Сичуг |
| Мезофільні молочнокислі мікроорганізми, КУО/г | $7{,}2 \cdot 10^6$ | $2{,}5 \cdot 10^6$ | $1{,}2 \cdot 10^4$ |
| Термофільні молочнокислі мікроорганізми, КУО/г | $1{,}1 \cdot 10^7$ | $3{,}4 \cdot 10^7$ | $4{,}7 \cdot 10^4$ |
| Пропіоновокислі бактерії, КУО/г. | $4{,}3 \cdot 10^5$ | $1{,}5 \cdot 10^6$ | $2{,}2 \cdot 10^3$ |
| Біфідобактерії, КУО/г | $5{,}7 \cdot 10^3$ | $2{,}1 \cdot 10^3$ | $5{,}6 \cdot 10^2$ |
| Коліформи, г | 0,0001 | 0,0001 | 0,00001 |
| *Лактатзброджувальні клостридії, г* | 0,0001 | 0,00001 | 0,00001 г |

Було встановлено, що рівень забруднення коліформами був доволі високим і ці мікроорганізми були присутні у 0,0001 г продукту.

Бактерії роду *Clostridium* теж були виявлені у 0,0001 г, але для закарпатської бринзи ці бактерії відіграють чи не основну роль у формуванні смаку. Вегетативна форма цих мікроорганізмів не виживає за умов пастеризації, тоді як спори витримують нагрівання до 120°С. Вони вказані як технічно-шкідлива культура, бо проростають в сирах і можуть рости при температурі вище 7°С в анаеробних умовах, продукуючи переважно масляну кислоту, $CO_2$ і $H_2$ шляхом розщеплення молочної кислоти. Оптимальне для зростання клостридій значення pH становить 5,8, але вони можуть рости в діапазоні pH від 4,5 до 7,5. При оптимальному значенні pH клостридії виносять таку високу концентрацію солі, як 5,5-6,0% [2]. Вони є технічно-шкідливою мікрофлорою, бо спричиняють «пізнє спучування» та псування першого малюнка у твердих сирів. Для закарпатської бринзи ці бактерії відіграють чи не основну роль в утворенні смаку готового продукту.

Корисна мікрофлора досліджених продуктів була представлена переважно коками, диплококами та ланцюжками різної довжини. Поряд коковими формами спостерігали наявність паличкоподібних клітин, характерних за морфологією для лактобацил. Загальна чисельність мезофільних молочнокислих мікроорганізмів у продуктах була на рівні $(2{,}5\text{-}7{,}2) \cdot 10^6$ КУО/г. Кількість термофільних $(1{,}1\text{-}3{,}4) \cdot 10^7$ КУО/г. Поряд коковими формами спостерігали наявність паличкоподібних клітин, характерних за морфологією для лактобацил та біфідобатерій.

У результаті проведених дослідженнях у зразку сиру семимісячної витримки було виявлено велику кількість пропіоновокислих бактерій, які сприяють поліпшенню смаку сиру, продукують вітамін $B_{12}$, пропіонову кислоту, пропіонат кальцію і пролін [3]. Також аналогічні мікроорганізми було виявлено і у сичузі.

**Література:**

1. Гудков А.В. Сыроделие: технологические, биологические и физико-химические аспекты. – М.: ДеЛи принт, 2003. – 799 с.
2. Шергин А.Н. Защитные культуры Danisco для предотвращения развития дрожжей и плесеней при производстве сыров //Сыроделие и маслоделие. - 2007. - №3. – С. 45-46.
3. Karakus M**.** Effect of starter composed of various species of lactic acid bacteria on quality and ripening of Turkish white pickled cheese / M. Karakuş, I. Alperden // LWT – Food Sci. Technol. – 1995. – Vol. 28. – P. 404-409.

**Штеніков М.Д.**
Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, Одеса, Україна

## АНТАГОНІСТИЧНА АКТИВНІСТЬ ЕНДОСПОРОУТВОРЮВАЛЬНИХ БАКТЕРІЙ НА СЕРЕДОВИЩАХ РІЗНОГО СКЛАДУ

*Was conducted antagonistic activity screening of 16 strains of aerobic endosporeforming bacteria during cultivation on two media of different composition, that revealed significant differences in extent of antagonistic activity. We can conclude, that pure in growth factors media are better for antagonism screening and searching bacteriocin producers.*

В умовах зростання небезпеки, що походить від резистентних штамів патогенних бактерій, все актуальнішим стає питання про пошук нових антимікробних препаратів, в тому числі і альтернативних по відношенню до антибіотиків. Одним з них є бактеріоцини – рибосомні пептиди з бактерицидною чи бактеріостатичною активністю по відношенню до штамів, філогенетично близьких до продуцента. Першим етапом дослідження будь-якого бактеріоцину є скринінг тест-штамів з метою пошуку продуцента антагоністично активних речовин, які можна було б далі перевіряти на здатність до синтезу саме бактеріоцинів. Для успішного скринінгу важливо підібрати оптимальні умови культивування, з точки зору найбільш повного прояву антагоністичних властивостей [2, 4].

Метою нашої роботи було з'ясувати вплив поживного середовища, яке використовується для культивування ендоспороутворювальних бактерій, на їх антагонізм по відношенню до опортуністичнх патогенів.

Як правило скринінг на антагонізм проводять проти тест-штамів батерій і дріжджів з використанням середовищ Lysogenic Broth (далі ЛБ) та м'ясо-пептонний агар (далі МПА), які багаті на ростові фактори [1, 3]. У нашій роботі вивчення антагонізму проводилося на двох середовищах – МПА та відібраному на основі низького вмісту ростових факторів агаризованому середовищі Гаузе №2. В якості бактерій антагоністів використовували 16 штамів ендоспороутворювальних бактерій, ізольованих з донних відкладень Чорного моря. Штамами індикаторами слугували 7 штамів умовно патогенних бактерій та штам *Candida albicans* І2683.

Таблиця 1. Порівняльна таблиця складу середовищ МПА та Гаузе-2.

| Середовище / Компонент | Гаузе №2 | Nutrient Agar (Himedia$^{TM}$) |
|---|---|---|
| NaCl | 5 | 5 |
| Агар-агар | 30 | 15 |
| Пептон | 5 | 5 |
| Глюкоза | 10 | 0 |
| Дріжджовий екстракт | 0 | 1,5 |
| М'ясний екстракт | 0 | 1,5 |
| Булйон Хоттингера | 100 мл | 0 |
| Дистильована вода | 900 мл | 1000 мл |

Середовище Гаузе №2, запропоноване для вирощування стрептоміцетів, містить значно менше ростових факторів, ніж МПА (за рахунок відсутності дріжджового та м'ясного екстрактів), натомість до її складу входить бульйон Хоттингера, багатший на амінний азот, та глюкоза – джерело вуглецю, що легко засвоюється (табл. 1).

Як можна бачити з таблиці 2, у випадку всіх штамів індикаторів кількість антагоністів по відношенню до них була вища на середовища Гаузе №2, ніж на МПА. Чотири штами не продемонстрували антагонізму до індикаторів на обох середовищах. Спостерігалося лише три випадки, коли антагоністичні властивості конкретного штаму були більш виражені на МПА, ніж на Гаузе №2.

Таблиця 2. Кількість штамів, що продемонстрували антагонізм

| Штам-індикатор | Середовища | |
|---|---|---|
| | МПА | Гаузе-2 |
| *Proteus vulgaris* B905 | 2 | 6 |
| *Pseudomonas aeruginosa* B329 | 0 | 4 |
| *Pseudomonas aeruginosa* B900 | 0 | 3 |
| *Candida albicans* I2683 | 3 | 6 |
| *Escherichia coli* B906 | 5 | 7 |
| *Salmonella enterica* B921 | 2 | 6 |
| *Klebsiella pneumonia* B920 | 4 | 6 |
| *Bacillus subtilis* B5001 | 1 | 3 |

На основі отриманих даних можна припустити, що зниження вмісту ростових факторів у поживному середовищі сприяє прояву антагоністичних властивостей бактерій.

**Література**

1. Abada E. A, Hendawy H. H. E., Osman M. E., Hafez M. A. Antimicrobial activity of Bacillus circulans isolated from rhizosphere of Medicago sativa // Life Science Journal. – 2014. –V. 11. – №8.
2. Abriouel H., Franz C.M.A.P., Ben Omar N., Gr alvez A. Diversity and applications of Bacillus bacteriocins // FEMS Microbiology Reviews. – 2011. – V. 35. – p. 201-232
3. M. L. Prieto et al. In Vitro Assessment of Marine Bacillus for Use as Livestock Probiotics // Marine Drugs. – 2014, – № 12. – p. 2422-2445;
4. Sumi C. D., Yang B. W., Yeo I.-C., Hahm Y. T. Antimicrobial peptides of the genus Bacillus: a new era for antibiotics // Canadian Journal of Microbiology. – 2015. – V. 61.

**Шулякова С.М., Васильєва Т.В., Блайда І.А**
Одеський національній університет імені І.І. Мечникова, Одеса, Україна

## ВПЛИВ ТЕХНОГЕННИХ ВІДХОДІВ НА ПРОРОСТАННЯ НАСІННЯ

*This work is devoted to the actual problem of the negative impact on the environment of technogenic waste of the central concentrator plant of Lviv-Volyn Coal Basin. By usage the method of biological control with peas seeds as the test object was been established strong toxic effect of dumps on the germination pea seeds. It was also has been shown that after the microbial treatment occurs detoxification of dumps. The obtained data indicate urgency of the problem and are suggest ways to solve*

Підприємства гірничо видобувного комплексу є одними з найбільш потужних джерел забруднення навколишнього середовища шкідливими сполуками, зокрема важкими металами. Нині дія на довкілля таких багатотоннажних промислових відходів, як відходи вуглезбагачення мало вивчена. Рядом дослідників встановлена негативна біологічна дія відвалів центральної збагачувальної фабрики (ЦЗФ) Львівсько-Волинського вугільного басейну (ЛВВБ) на пророщування насіння вищих рослин - пригноблення їх схожості реєстрували в 20,0 - 60,0 % випадків. Існують дані про інгібірування проростання насіння пшениці, календули, огірків, кукурудзи, редису, рапсу водними стоками з відвалів ЦОФ ЛВВБ, що, на думку авторів, так само є наслідком хімічного складу відвалів. Певній закономірності негативного біологічного ефекту на схожість насіння рослин авторами виявлено не було - реєстрували як інгібірування проростання насіння, так і незначну стимулюючу дію (Блайда, 2008; Баранов, 2008). Перспективними методами вторинної переробки та знешкодження техногенних відходів вуглезбагачення є використання мікробіологічних технологій (Блайда, 2012).

**Метою** роботи було вивчення впливу породних відвалів до і після бактеріального вилуговування на схожість насіння гороху.

**Матеріали та методи дослідження.** Об'єктами лабораторних досліджень були чорні неперегорілі породні відвалів вугільних шахт ЦЗФ ЛВВБ до і після мікробіологічної обробки. В якості тест-об'єкту використовували насіння гороху, що активно акумулює важки метали, які є пріоритетними компонентами складу породних відвалів. Попередньо насінин гороху змочували у 3,0 % розчині перекису водню для знезаражування і попередження появи цвілевих грибів. Пророщування насіння здійснювали в чашках Петрі із зволоженим (15,0 мл дистильованої води) фільтрувальним папером, на який поміщали 15,0 г досліджуваних відвалів і 20 зерен гороху. Контролем слугував садовий грунт. Вирощування насіння здійснювали впродовж 21 доби в чашках Петрі; кожен тиждень реєстрували кількість зерен, що проросло. Показником фітотоксичної дії слугувало зниження схожості насіння у порівнянні з контрольною пробою. Критерієм фітотоксичного ефекту було інгібірування показників, що реєстрували, в досліді у порівнянні з контролем на %:≤ 50,0 - фітоефект виражений негативний; 35,0-50,0 % - фітоефект середній негативний; 25,0-35,0 % - фітоефект слабкий негативний; ≥25,0 - відсутність негативного фітоефекту.

**Результати і їх обговорення.** При проведенні біологічного контролю техногенних відходів постає питання використання відповідного тест-об'єкту. За літературними даними і нашими попередніми результатами, заслуговує на увагу група рослинних тет-об'єктів, зокрема, насіння вищих рослин – пшениця, овес, горіх та інш. Фітотести здатні адекватно реагувати на екзогенну хімічну дію, інформативні, високо чутливі, характеризуються стабільністю отримуваних результатів. Результати оцінки впливу породних відвалів на проростання насіння гороху приведені на рис. 1. В умовах наших дослідів встановлено

виражений негативний вплив породних відвалів до мікробіологічної обробки на проростання зерен гороху - впродовж усього терміну експерименту - від 1 до 3 тиждня - реєстрували збільшення загиблого насіння від 57,2 % до 85,2 %.

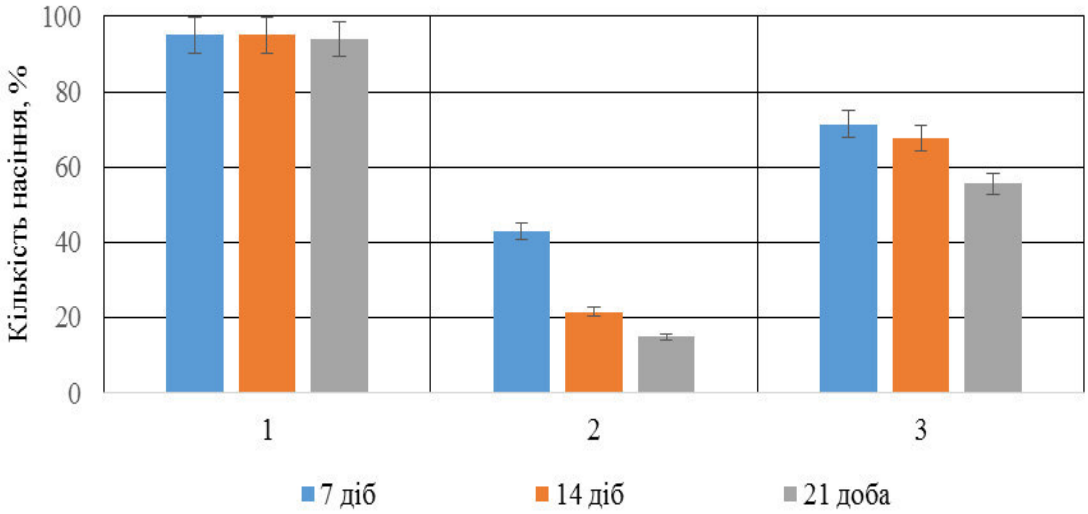



Рис. 1 - Схожість (%) насіння гороху при пророщуванні на породних субстратах
Примітки: 1 – пісок, 2 – породні відвали необроблені, 3 – породні відвали після мікробіологічної обробки

При пророщування зерен гороху на субстратах після мікробної обробки, згідно вибраному критерію фітотоксичної дії, в перший тиждень пригнічення проростання насіння не спостерігали – фітотоксичний ефект був відсутній. Через 14 і 21 добу спостерігали так звані віддалені наслідки – зростання кількості загиблого насіння; негативний фітоефект можна розцінити як слабкий та середній.

Отже за результатами наведених досліджень встановлена токсична дія породних відвалів ЦЗФ ЛВВУБ та показано, що бактеріальне вилуговування сприяє не тільки вилученню металів, але й детоксикації мінеральної сировини техногенного походження.

**Література:**

1. Блайда И.А., Васильева Н.Ю., Митяева Н.П. Техногенные отходы Украины: оценка экологической опасности и необходимости осуществления биологического контроля // Энерготехнологии и ресурсосбережение. - 2008 г. - № 5. - С. 50-54.
2. Блайда И.А., Баранов В.И., Васильева Т.В., Васильева Н.Ю., Немерцалов В.В. Бактериальное выщелачивание отходов углеобогащения как метод их детоксикации и вторичной переработки с извлечением ценных металлов //Энерготехнологии и ресурсосбережение. – 2012. - №2. - С. 37–43.
3. Баранов В. І. Екологічний опис породного відвалу вугільних шахт ЦЗФ ЗАТ "Львівсистеменерго", як об'єкта для озеленення //Вісник Львівського університету. Сер. біол. - 2008. - Вип. 46. - С.172 - 178.

**Шувар І.А.[1], Шувар Б.І.[1], Сендецький В.М.[2]**
[1]Львівський національний аграрний університет, Львів, Україна
[2]Подільський державний аграрно-технічний університет

## КУЛЬТУРИ ПРОМІЖНОГО ВИРОЩУВАННЯ ДЛЯ ПОЛІПШЕННЯ РОДЮЧОСТІ ҐРУНТУ ЗА УМОВ БІОЛОГІЗАЦІЇ ЗЕМЛЕРОБСТВА ЗАХІДНОГО ЛІСОСТЕПУ УКРАЇНИ

*The role of intermediate green manure crops in conjunction with the destruction of straw "Vermystymom-D" in organic agriculture*.

Гострий дефіцит органічних добрив за умов ведення сучасного землеробства зумовлений порушенням структури посівних площ у масштабах країни (практично не вирощують багаторічні бобові та злаково-бобові трави, однорічні сумішки та інші кормові культури), зведенням до мінімуму вирощування ВРХ у приватному та держаному секторах, і як наслідок, відсутність органічних добрив, бездарне і без наказне спалювання вторинної продукції рослинництва на полях (у кращому випаду – тюкування та спалювання у котлах), небажання та невміння вирощувати культури проміжного вирощування на корм або сидерат (у поєднанні з соломою), нищівне виснажування ґрунтів унаслідок вирощування на мінеральному фоні упродовж кількох років поспіль культур (соняшник, ріпак, зернові культури), які для формування врожаю безповоротно „забирають” з ґрунту поживні речовини природного походження. За даними Державної служби статистики України, станом на 1 червня 2016 року поголів'я великої рогатої худоби зменшилося на 2,8% порівняно з аналогічною датою минулого року (поголів'я корів зменшилося на 3,6% – до 2 млн. 192,3 тис., тварин свиней на 2,7% – до 7 млн. 400 тис., овець і кіз на 3,4% – до 1 млн. 717,9 тис., поголів'я птиці на 3,6%, склавши 217 млн. 94,1 тис. Станом на 1 червня 2015 року поголів'я великої рогатої худоби в Україні склало 4 млн. 429 тис. голів. Для порівняння, станом на 1 травня 2016 року кількість поголів'я склало 4 млн. 267,4 тисяч голів, що на 3,3% менше, ніж за аналогічний місяць 2015 року.

Щорічні втрати родючого шару ґрунту сягають 600 млн.т, зокрема гумусу до 20 млн.т. Для їх компенсації необхідно вносити 300-350 млн.т традиційних органічних добрив за умов реального виробництва тільки близько 30 млн.т. Для простого відтворення родючості ґрунтів необхідно щорічно вносити органічних добрив близько 8-10 т/га посівної площі.

В Україні є усі передумови для виробництва екологічно чистої продукції – сприятливі природно-кліматичні умови, родючі ґрунти, низький рівень використання мінеральних добрив та засобів захисту рослин, значний ринок потенційних споживачів, а також позитивний досвід вітчизняних товаровиробників.

Розвитком органічного руху в Україні займаються Федерація органічного руху України, Асоціація «Чиста Флора», Об'єднання «Полтава-органік», Міжнародна Громадська Асоціація учасників біовиробництва «БІОЛан Україна», Клуб органічного землеробства, Спілка учасників органічного агровиробництва «Натурпродукт» та багато інших організацій. Однак, органічне виробництво в Україні розвивається повільно із-за низки об’єктивних і суб’єктивних причин.

Важливим резервом для розв’язання цієї проблеми – вирощування культур проміжного вирощування як у чистому вигляді, так і сумісно (що вкрай необхідно на сучасному етапі) з соломою різних культур. В останні роки у різних країнах світу та в Україні широко впроваджують технології пришвидшеної деструкції соломи і рослинних решток за допомогою біодеструкторів. На ринку України з’явилося багато деструкторів з різною ефективністю розкладання рослинних решток: як ферментативні препарати хімічного

розкладання целюлози короткочасної дії, так і біологічні препарати на основі живих мікроорганізмів і продуктів їх життєдіяльності, гормонів, ферментів. Природний процес розкладання клітковини живими організмами супроводжується збільшенням чисельності корисних мікроорганізмів у ґрунті, активізацією їх життєдіяльності і придушенням патогенної мікрофлори. Поряд з поліпшенням родючості ґрунту відбувається і його оздоровлення.

Упродовж 1985-2005 рр. [1] та 2012-2015 років виконано комплексні дослідження з вивчення ефективності сумісного застосування сидерату у проміжних посівах і деструкції соломи та рослинних решток деструктором „Вермистим-Д" у ПФ „Богдан і К" Снятинського району Івано-Франківської області, де підтверджено високу їх ефективність [2-4].

Реалізація Стратегії розвитку аграрного сектору економіки України на період до 2020 року повинна забезпечити зростання частки сільськогосподарських угідь, що сертифіковані до органічних стандартів – до 5%, збільшення у 3 рази кількості сільгосппідприємств, що продукують органічну продукцію та зростання частки органічної продукції до 3%, що відповідає статистичним показникам основних європейських країн, які розвивають цей напрям сільськогосподарського виробництва.

Проблема органічного землеробства як альтернатива традиційного аграрного виробництва не нова. З 1982 р існує Міжнародна федерація спілок землеробства. Спочатку до неї входили переважно вчені-аграрії, які своєчасно визначили, що розвиток традиційного землеробства йде у неправильному напрямі. В ІФОАМ на даний час налічується близько 300 організацій і об'єднань у більш, ніж 100 країнах світу.

Разом з тим Україна вже встигла заявити про себе на міжнародному ринку екологічно безпечних продуктів як експортера: в рейтингу 100 країн-виробників вона займає 16-е місце за площею, зайнятою вирощуванням екологічно безпечної продукції.

На початок 2016 року в Україні сертифіковане 410 тис. га, як екологічно безпечних земель. Рентабельність екологічно безпечної продукції, виробленої в Україні за поставок до країн ЄС, становить 200-250%. Серед великих агропідприємств з органічного землеробства попереду ПП „Агроекологія" Полтавської та ПП „Галекс-Агро" Житомирської областей.

Таким чином, застосування деструктора "Вермистим-Д" для деструкції соломи сумісно з посівом проміжних культур у сучасних біологізованих технологіях забезпечує приріст врожайності сільськогосподарських культур, високу якість здешевленої продукції, уможливлює зменшення витрат на придбання пестицидів, мінеральних добрив та послаблення негативного впливу на навколишнє природне середовище. Біологізація землеробства є незаперечною альтернативою та гідним конкурентом мінеральним добривам і агрохімікатам в Україні та за її межами.

**Література**:

1. Бегей С.В. Екологічне землеробство / С.В. Бегей, І.А. Шувар: Підручник. – Львів: „Новий Світ-2000", 2007. – 429 с.
2. Шувар І.А. Технології для поліпшення родючості грунтів у сучасному землеробстві / І.А. Шувар, В.С. Гнидюк, О.М. Бунчак, В.М. Сендецький, О.Б. Тимофійчук // Агробізнес сьогодні. – 2016. – № 9 (328).– С.62-64.
3. Іванишин В. В. Рекомендації з вирощування гречки у проміжних посівах / Іванишин В. В., Шувар І. А., Сендецький В. М., Центило Л. В., Гаврилянчик Р. Ю. та ін.; За заг. редакцією В. В. Іванишина та І. А. Шувара. – Івано-Франківськ: Симфонія форте, 2015. – 48 с.
4. Шувар І. А. Сидерати в сучасному землеробстві: науково-виробниче видання:монографія / Шувар І. А. Бердніков О.М., Сендецький В.М., Тимофійчук О.В., Гнидюк В.С., О.М. Бунчак, Л.В. Центило, Н.М. Колісник, Б.В. Тимофійчук; За заг. ред. І. А. Шувара. – Івано-Франківськ: Симфонія форте, 2015. – 156 с.

**Яремкевич О.С., Заярнюк Н.Л., Червецова В.Г., Швед О.В., Клап Я.А., Новіков В.П.**
Національний університет «Львівська політехніка», Львів, Україна

## ВПЛИВ ФІЗИЧНИХ ПОЛІВ НА КУЛЬТУРУ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* ЯК МЕТОД ПОКРАЩЕННЯ ЗБРОДЖЕННЯ

*The influence of the electromagnetic field frequency of 51 MHz and a constant magnetic field strength of 750 kA/m on S. cerevisiae to identify promising application of these fields to increase the yield of ethanol were studied. It was shown the stimulated effect by studied fields on the grouse and the metabolism of yeast S. cerevisiae.*

Ситуація, яка склалася в Україні із забезпеченням її економіки достатніми обсягами енергоносіїв власного видобутку, гостро ставить проблему пошуку альтернативних видів палива. З проблемами сучасної енергетики тісно пов'язані проблеми екологічні: необхідність розробити наукові методи і технології одержання енергії одночасно з вирішенням питань щодо захисту навколишнього середовища від забруднень. Одним із методів біологічної конверсії є алкогольне бродіння з одержанням етанолу. Інноваційне забезпечення виробництва біоетанолу давно привертає увагу вітчизняних та іноземних науковців, більш того, підтримка розвитку науково-технічної бази виробництва альтернативних видів палива та пропаганда науково-технічних досягнень у цій сфері передбачені законодавством України. Концепція виробництва біоетанолу включає кілька напрямів, серед яких пріоритетними є пошук нових продуцентів, джерел поновлювальної біомаси та технологічних методів.

Для збільшення продуктивності застосовують різні методи стимуляції росту та прискорення метаболічних процес*і*в у мікроорганізмів. Обробку біологічних систем фізичними полями широко використовують для вдосконалення багатьох біотехнологій. Численними біологічними дослідженнями показано, що організми різних видів – від одноклітинних до людини – чутливі до постійного магнітного поля (ПМП) і електромагнітного поля (ЕМП) різних частот [1]. На сьогодні зібрано багато даних, які демонструють стимулюючу, інгібуючу або руйнівну дію полів на мікробіологічні об'єкти, їхній вплив залежить від інтенсивності та частотного діапазону випромінювань. Тонкі механізми цієї дії з'ясовані недостатньо, проте, за думкою науковців, вони зумовлені впливом на молекули води, розчинені в ній речовини та стан клітинних мембран. Культура дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* згідно з даними, наведеними у наукових публікаціях, є достовірно сприйнятливою до дії ЕМП та ПМП. Слід зазначити, що є дані щодо відсутності мутагенних ефектів дії ЕМП мікрохвильового діапазону (900 МГц) на *S. cerevisiae*, ЕМП в діапазоні частот 50-55 ГГц проявляють стимулюючу дію і покращують показники зброджения в технології виробництва етанолу [2]. Основну увагу науковців приділено дослідженням впливів електромагнітних хвиль міліметрового діапазону (частот 50-100ГГц), хоча показано, що з невідомих причин досить часто слабкі поля (з частотами до 500 Гц) є ефективнішими [3, 4].

Метою цього дослідження є вивчення впливу ЕМП частотою 51 МГц та ПМП напруженістю 750 кА/м на культури мікроорганізмів, зокрема, на *S. cerevisiae* та визначення перспективності застосування цих полів для збільшення виходу біоетанолу.

Об'єктами дослідження крім *S. cerevisiae*, були також бактерії *E. coli* та *St. aureus* і дріжджоподібні гриби *Candida tenuis*. У дослідах використовували два типи магнітних полів ЕМП частотою 51 МГц та ПМП напруженістю 750 кА/м. Як поживні середовища використовувався м'ясопептонний бульон - для культивування бактерій, а також пивне та мелясне сусло для дріжджів, котрі були стерилізовані автоклавуванням у пробірках при температурі 121 °С і тиску 1,2 атм. впродовж 30-40 хв. Розводили мікроорганізми у

стерильній водопровідній воді до концентрації $10^6$ КУО/мл за тестом мутності. Готову суспензію мікроорганізмів (по 0,5 мл) додавали до 4,5 мл середовища та опромінювали. Паралельно проводили контрольний дослід. Перед опроміненням проводили початкові заміри дослідних зразків та контролю на пропускання світла в порівнянні з середовищем, вимірювання проводили на спектрофотометрі ЛМФ-72 М.

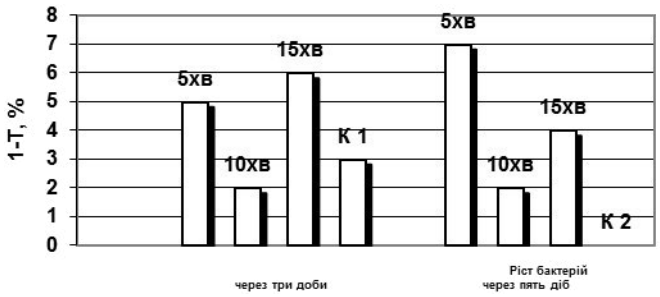



Рис. 1 Залежність показників поглинання світла (1-Т) від росту дріжджів через три та чотири доби після впливу ПМП.

Результати досліджень показали, що бактерії і гриби по-різному реагують на дію ЕМП частотою 51 МГц та ПМП напруженістю 750 кА/м, що, вочевидь, зумовлено особливостями їх будови, хімічного складу та метаболізму. На бактерії ЕМП та ПМП мають тимчасово пригнічуючий вплив, що появлявся тільки у першу добу після опромінення. Дріжджі виявились більш чутливими до дії цих полів, при чому ЕМП пригнічували ріст цих мікроорганізмів, а ПМП, навпаки, мали стимулюючий ефект в порівнянні з контролем, і його вплив тривалістю 5 хв. призвів до найбільшого росту мікроорганізмів як через три доби, так і через п’ять (рис. 1). Внаслідок біостимулюючої дії ПМП вищевказаної напруженості покращили показники зброджування мелясного сусла (збільшилось виділення вуглекислого газу та відсоток етанолу (на 1% об.) порівняно з контролем, зменшилась кількість незброджених цукрів).

У подальших дослідженнях планується вивчення здатності опроміненої культури *S. cerevisiae* зброджувати лігноцелюлозні матеріали (макулатури та сміття) після їхнього попереднього хімічного та ферментативного оцукрювання, оскільки вирішення задач, пов’язаних із практичним застосуванням ЕМП, ПМП у виробництві біоетанолу потребує детального вивчення.

**Література:**

1. Лошицький П. П. Вплив електромагнітного випромінювання на молочнокислі бактерії/ П. П. Лошицький, Л. О. Косоголова, Я. В. Дем'янова, К. М. Яблонська // Проблеми екологічної біотехнології. - К. – 2014. – № 1. – С. 65-72.
2. Malyapa Robert S. Measurement of DNA damage after exposure to 2450 MHz electromagnetic radiation / Malyapa Robert S., Ahern Eric W., Straube William L., Moras Eduardo G., Pickard William F., Roti Joseph L. // Radiat. Res. – 1997, № 6. – P. 608-617.
3. Нижельская А.И. Оптимизация экспериментальных исследований резонансной реакции Saccharomyces cerevisiae на воздействие ЭМИ миллиметрового диапазона / А.И. Нижельская, А.В. Якунов // Физика живого. – 2004, (1). – С. 53–62.
4. Якунов А.В. Влияние обработки дрожей *Saccharomyces cerevisiae* миллиметровыми волнами на показатели сбраживания в технологии производства биоэтанола / А.В. Якунов, А.И. Нижельская, Маринченко Л.В., МаринченкоВ.А., Макара В.А. // Электронная обработка материалов. – 2015. - №51(2). – С.55-60.

**Яремкевич Е.С. [1], Семенюк И.В. [2], Фигурка О.М. [1], Карпенко Е.В. [2], Новиков В.П. [1]**
[1]Национальный университет «Львовская политехника», Львов, Украина
[2]Отделение физико-химии горючих ископаемых ИнФОВ им. Л.Н. Литвиненко НАН Украины, Донецк, Украина

## АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ *IN VITRO*

*Humic acids were studied as potential antioxidants in oxidative stress conditions.*

На сегодня важным и актуальным направлением является разработка и внедрение в сферы сельского хозяйства, ветеринарии и медицины экологически чистых, малотоксичных и высокоэффективных биологически активных веществ (БАВ). Среди таких БАВ особое место занимают гуминовые вещества природного происхождения, которые являются гетерогенными, полифункциональными и полидисперсными биополимерами с высокой молекулярной массой, которая может колебаться от 1000 до 60000 единиц [1].

Гуминовые кислоты являются одними из главных компонентов органических веществ твердых горючих ископаемых, почв, торфов, морских и озерных донных залежей [2]. Они являются нетоксичными, в организме животных быстро метаболизируются, проявляют иммуномодулирующие, адаптогенные и антиоксидантные свойства [3]. Гуминовые вещества также способны повышать урожайность сельскохозяйственных культур, устойчивость растений к поражению их инфекционными заболеваниями в период вегетации и к различным неблагоприятным факторам окружающей среды (заморозкам, засухе, действию пестицидов), а также нормализовать обмен веществ у животных и птиц благодаря синергизму с витаминами и минеральными элементами [4].

Целью нашей работы было исследование влияния биологически активных веществ гуминовой природы на процессы перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков в тканях печени (гомогенате) крысы.

Предметом исследования были гуминовые кислоты (ГК), полученные из биогумуса (ТУ У 13649334022-99) – 1%-ные и 0,55%-ные растворы, а также из чернозема (0,55%-ный). Экстракцию ГК проводили 1%-ным раствором гидроксида калия при постоянном перемешивании в течение 30 мин при температуре $50^0$ С. Твердый остаток отделяли на центрифуге ULAB (Германия) при 5000 об/мин. Полученный раствор подкисляли 5%-ным раствором соляной кислоты до pH <2. Выпавшие в осадок гуминовые кислоты отделяли центрифугированием (5000 об/мин), очистку ГК проводили путем растворения полученного осадка в 0,1 М растворе натрия гидроксида и повторного осаждения 5%-ным раствором кислоты соляной. Полученный повторным центрифугированием осадок отфильтровывали через бумажный фильтр, промывали дистиллированной водой до отрицательной пробы на хлорид-ионы, очищенный осадок высушивали при температуре 40-50° С до постоянной массы.

Для изучения показателей перекисного окисления липидов (ПОЛ) и окислительной модификации белка (ОМБ) использовали гуминовые кислоты, растворенные в 0,01 М растворе гидроксида калия, исследования проводились на гомогенате печени крысы.Определение показателей оксидативного стресса ПОЛ и ОМБ осуществляли в одном образце [5]. Содержание вторичных продуктов липопероксидации (ТБК-активных продуктов) в подготовленных образцах определяли на спектрофотометре «Specord M-40» с максимумом поглощения при 532 нм. Степень ОМБ оценивали по количеству образованных дополнительных карбонильных групп (КГ) в боковых цепях аминокислот, содержание которых определяли с помощьюреакции с 2,4-динитрофенилгидразином на спектрофотометре «Specord M-40» при длине волны 370 нм. Количество белка в пробах определяли по методу Лоури [6].

В результате проведенных исследований ПОЛ и ОМБ (рис. 1, 2) было установлено, что при действии всех исследуемых ГК происходит значительное снижение содержания ТБК-активных продуктов и образование карбонильных групп по сравнению с контролем. Это свидетельствует о высоких антиоксидантных свойствах полученных гуминовых кислот.

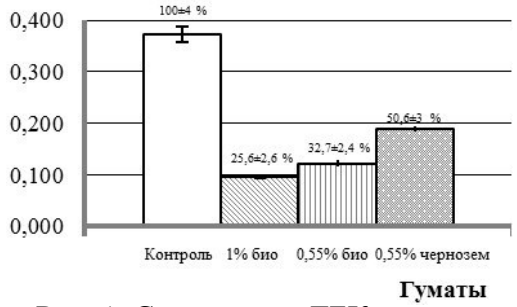



Рис. 1. Содержание ТБК-активных продуктов в гомогенате печеникрысы при действииГК (мкмоль/мг белка;M±m; n=5)

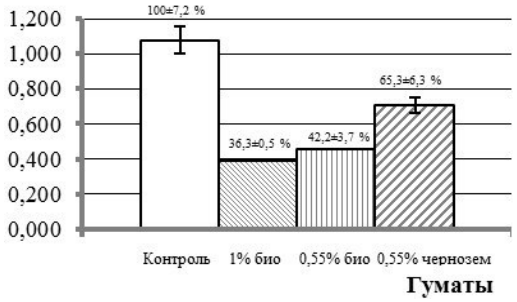



Рис. 2. Содержание КГП в гомогенате печени крысыпри действии ГК (нмоль/мг белка;M±m; n=5)

Как видно из диаграммы, наиболее эффективным среди исследуемых гуматов относительно показателей оксидативного стресса были 1%-ный и 0,55%-ный растворы ГК из биогумуса, поскольку при их использовании наблюдается снижение содержания ТБК-активных продуктов на 74,4% и на 67 3% соответственно, а содержания КГ – на 63,7% и на 57,8% по сравнению с контролем. Менее выраженную, хотя и высокую (по сравнению с контролем) антиоксидантную активность проявил 0,55%-ный раствор ГК из чернозема, применение которого способствовало снижению содержания ТБК-активных продуктов на 49,4% и КГ – на 34,7% соответственно.

Анализ полученных результатов показал, что при действии исследованных гуминовых кислот наблюдается достоверное уменьшение содержания ТБК-активных продуктов и КГ по сравнению с контролем, что свидетельствует о снижении интенсивности процессов ПОЛ и ОМБ, при этом наибольшую активность проявили ГК, полученные из биогумуса. Таким образом, высокая антиоксидантная активность полученных гуминовых кислот свидетельствует о перспективах и целесообразности их применения в экстремальных ситуациях и в условиях свободно-радикального стресса для восстановления физиологических функций биологических объектов при патологических состояниях.

**Литература**

7. Pena-Mendez, E. M. Humic substances–compounds of stillun known structure: application sinagriculture, industry, environment, andbiomedicine / E. M. Pena-Mendez, J. Havel, J. Patocka // J. Appl. Biomed. – 2005. – V. 3. – №. 1. – p. 13-24.
8. Thurman, E. M. Humic Substances in Soil, SedimentandWater / E. M. Thurman. – Wiley-Interscience. – 1985. – 87-104 p.
9. О. М. Бучко, Н. О. Салига, О. З. Сварчевська, І. Я. Максимович, О. М. Сеньків.Імунологічні та гематологічні показники крові поросятза дії гумінової добавки // Вісник ОНУ. Сер.: Біологія. – 2013. – Т. 18, вип. 3(32) . – С. 73-81.
10. Степченко Л.М. Регуляторні механізми дії біологічно активних речовин гумінової природи на організм продуктивної птиці // Фізіол. журнал. – 2010. – Т.56, №2. – С. 306.
11. Лущак В.І. Показники оксидативного стресу. 1. Тіобарбітурат-активні продукти і карбонільні групи білків / В. І. Лущак, Т.В. Багнюкова, О.В. Лущак // Укр. біохім. журн. – 2004. – № 3. – С. 136-141.
12. LowryO.H. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O.H. Lowry, N.G. Rosebrough, A.L. Farr, R.C. Randall // J.Biol.Chem.–1951.–193, N1.–P.265–275.