

**РОЛЬ ОБРОБКИ НАСІННЯ БОБОВИХ КУЛЬТУР
БІОЛОГІЧНИМ ПРЕПАРАТОМ ЕПАА У
ПІДВИЩЕННІ ІМУНІТЕТУ ТА
ПРОДУКТИВНОСТІ РОСЛИН**

Воцелко С.К., Лапа С.В., Данкевич Л.А.

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАНУ,
вул. Академіка Заболотного, 154, м. Київ, 03143, Україна

*Показано позитивний вплив обробки насіння люпину, сої, бобів, гороху і вики агроемістимом-екстра, ЕПАА, *Bacillus subtilis* УКМ 5137 на енергію проростання, схожість, а також біометричні показники проростків. Встановлено, що обробка насіння даних культур ЕПАА, *B. subtilis* УКМ 5137 і *B. amyloliquefaciens* УКМ 5017 значно підвищує стійкість рослин до фітопатогенів.*

Ключові слова: *агроемістим-екстра, ЕПАА, Bacillus subtilis* УКМ 5137, *Bacillus amyloliquefaciens* УКМ 5017.

Рослини підродини бобових (*Faboidae*), завдяки багатому мінеральному та вітамінному складу, а також високому вмісту рослинного білка, який практично повністю може замінити білок тваринного походження, є цінними продовольчими, кормовими й технічними культурами. Крім того, завдяки симбіозу з азотфіксуючими бактеріями, вони здатні фіксувати азот повітря, покращуючи тим самим родючість ґрунту [2]. В останні роки значно збільшуються площі, відведені під вирощування бобових культур.

На сьогодні у технології вирощування цих культур широко використовуються хімічні сполуки різної дії (фунгіциди, гербіциди, інсектициди та ін.), що призводить до значного забруднення навколишнього середовища. Саме тому у світовій практиці при вирощуванні сільськогосподарських культур узагалі і бобових зокрема спостерігається зниження норм використання хімічних сполук та поступовий перехід до застосування екологічно безпечних біологічних препаратів. Одним із показових прикладів використання цих препаратів для суттєвого підвищення врожайності бобових культур є обробка їхнього насіння ризобіотом. Цей спосіб обробки дозволяє не тільки майже на третину підвищити врожайність бобових культур, а й значно збільшити вміст у них білка [14]. Але, незважаючи на високий біологічний та екологічний

потенціал, в Україні лише деякі препарати біологічного походження зареєстровані і використовуються в рослинництві. Саме тому актуальними є розробка та впровадження у практику біологічних препаратів різної дії.

Інститутом мікробіології і вірусології НАНУ спільно з Херсонським державним технічним університетом створено новий біологічний препарат ЕПАА, придатний для практичного застосування у народному господарстві [11,12]. ЕПАА є екологічно безпечним співполімером, який створено на основі мікробних екзополіцукридів ксампану (продуцент *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*), енпосану (продуцент *Paenibacillus polymyxa*) та акриламідів [13]. Дослідні партії ЕПАА випробовуються у польових умовах [11]. В ряді робіт показана ефективність ЕПАА як липкогенного носія пестицидів, регуляторів росту рослин, бактеріальних препаратів, що сприяє кращому їх закріпленню на насінні і рослинах різних сільськогосподарських культур, а отже, дає можливість знизити норми використання даних препаратів [3-6]. Оскільки у своєму складі ЕПАА містить біологічно активні екзополіцукриди мікробного походження [13], на особливу увагу, як ми вважаємо, заслуговує потенційна фітостимулювальна дія цього співполімеру.

Враховуючи значний вплив на врожайність бобових культур збудників захворювань різної етіології [2], пошук природних антагоністів фітопатогенів та створення на їх основі біопрепаратів є актуальним. Інститутом мікробіології і вірусології НАНУ створено препарат спорофіт (на основі *Bacillus amyloliquefaciens* ІМВ В-7100) [10], який за рахунок синтезу комплексу біологічно активних речовин, в тому числі поліпептидних та аміноглікозидних антибіотиків, проявляє антагоністичні властивості щодо широкого спектра збудників [15]. Дослідні партії даного препарату випробовуються в польових умовах [9].

На сучасному ринку препаратів рослинництво має широкий вибір розроблених Міжвідомчим науково-технологічним центром “АГРОБІОТЕХ” регуляторів росту рослин. Ряд з них (емістим, агроемістим-екстра, агростимулін, біоагростим-екстра) успішно використовуються для підвищення врожайності бобових культур. Ці препарати містять природні фітогормони, їх штучні аналоги або композиційні фіторегулюючі препарати, мікроелементи, що дає можливість цілеспрямовано регулювати важливі процеси росту і

розвитку рослин. Агроемістим-екстра створено на основі грибів-епіфітів з кореневої системи лікарських рослин, вирощуваних із застосуванням біотехнологічних методів. Він містить аналоги фітогормонів, речовини, що відповідають за продукування фітонцидів, фітоалексинів, хелатні форми біогенних мікроелементів [1]. Останнім часом у літературі з'явилися повідомлення про можливість збільшення фітостимулювальної дії регуляторів росту за рахунок утворення на їх основі композицій з різними біопрепаратами [3,5].

Виходячи з вищенаведеного, метою наших досліджень було вивчити вплив співполімеру ЕПАА, штамів *B. amyloliquefaciens* УКМ 5017, *B. subtilis* УКМ 5137 і регулятора росту агроемістиму-екстра на схожість насіння, біометричні показники проростків та уражуваність проростків і рослин люпину, сої, бобів, гороху та вики патогенами різної етіології.

Матеріали й методи. Насіння замочували протягом 20 хв у 0,5 %-ному водному розчині ЕПАА, 0,1-0,2 %-ному водному розчині агроемістиму-екстра і суспензії клітин *B. amyloliquefaciens* УКМ 5017, *B. subtilis* УКМ 5137 ($1 \cdot 10^7$ КУО/мл). Енергію проростання та лабораторну схожість визначали за методикою ДСТУ-2240-93 [8].

У досліджах використали районовані сорти бобових культур: люпин білий сорту Олежка (малоалкалоїдний – 0,025 % сухої речовини насіння), сою сорту Артеміда, боби сорту Хоростківські, горох сорту Харківський 29, вику сорту Білоцерківська. Досліди проводили у триразовому повторенні.

Результати та їх обговорення. Показано, що після обробки насіння люпину, сої, бобів, гороху та вики розчинами агроемістиму-екстра, ЕПАА та суспензіями клітин *B. amyloliquefaciens* УКМ 5017, *B. subtilis* УКМ 5137 значно посилюється енергія проростання, і підвищується схожість насіння, поліпшуються біометричні показники проростків (табл. 1).

Встановлено, що найбільше на енергію проростання та схожість насіння люпину, сої, бобів, гороху та вики впливають розчини ЕПАА, агроемістим-екстра та суспензія клітин *B. subtilis* УКМ 5137. Так, обробка насіння ЕПАА покращує, порівняно з контролем, ці показники на 13,2-13,4 %, агроемістимом-екстра – на 14,4-13,6 %, а суспензією клітин *B. subtilis* УКМ 5137 – на 12,6-13,2 %. Натомість замочування насіння згаданих вище культур у суспензії клітин *B. amyloliquefaciens* УКМ 5017 знижує, порівняно

з контролем, на 1,8 % енергію проростання та на 2 % – схожість насіння (рис. 1, 2).

Таблиця 1. Вплив біопрепаратів на лабораторну схожість та енергію проростання насіння бобових культур, %

Культура	Показники	Контроль (без обробки)	0,5%-ний розчин ЕПАА	0,1-0,2%-ний розчин агроемістиму-екстра	<i>Bacillus subtilis</i> УКМ 5137	<i>Bacillus amylo-liquefaciens</i> УКМ 5017
Люпин	енергія проростання	85,0±0,1	90,0±0,05	97,0±0,02	88,0±0,1	89,0±0,3
	лабораторна схожість	95,0±0,15	98,0±0,1	100,0±0	98,0±0,1	99,0±0
Соя	енергія проростання	47,0±0,12	68,0±0,13	80,0±0,5	70,0±0,2	58,0±0,3
	лабораторна схожість	50,0±0,2	75,0±0,5	85,0±0,1	75,0±0,3	60,0±0
Боби	енергія проростання	55,0±0,1	69,0±0,1	70,0±0,05	69,0±0	60,0±0,1
	лабораторна схожість	60,0±0	76,0±0,2	78,0±0,1	74,0±0,3	66,0±0
Горох	енергія проростання	87,0±0,05	98,0±0,01	89,0±0,02	95,0±0,3	60,0±0,1
	лабораторна схожість	90,0±0,01	100,0±0	91,0±0,5	100,0±0	65,0±0,5
Вика	енергія проростання	80,0±0	95,0±0,03	90,0±0,2	95,0±0,5	78,0±0,01
	лабораторна схожість	85,0±0,02	99,0±0,1	94,0±0,5	100,0±0,1	80,0±0

Аналогічних змін зазнають і біометричні показники проростків – замочування насіння сої, бобів, гороху і вики у розчині ЕПАА збільшує ці показники, порівняно з контролем, на 4-100 %. Але при обробці насіння люпину зазначеними препаратами довжина коренів порівняно з контрольними показниками несуттєво зменшується, тоді як висота пагонів на 60,4 % збільшується (табл. 2).

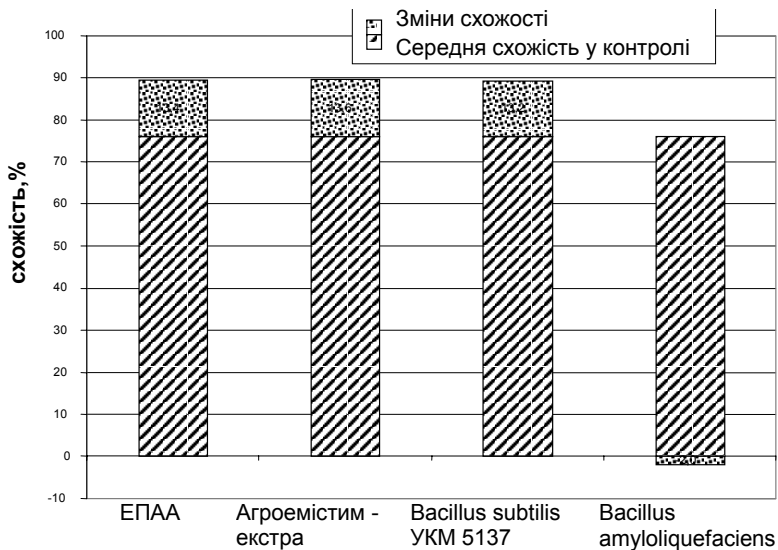


Рис. 1 Вплив біопрепаратів на схожість насіння бобових культур

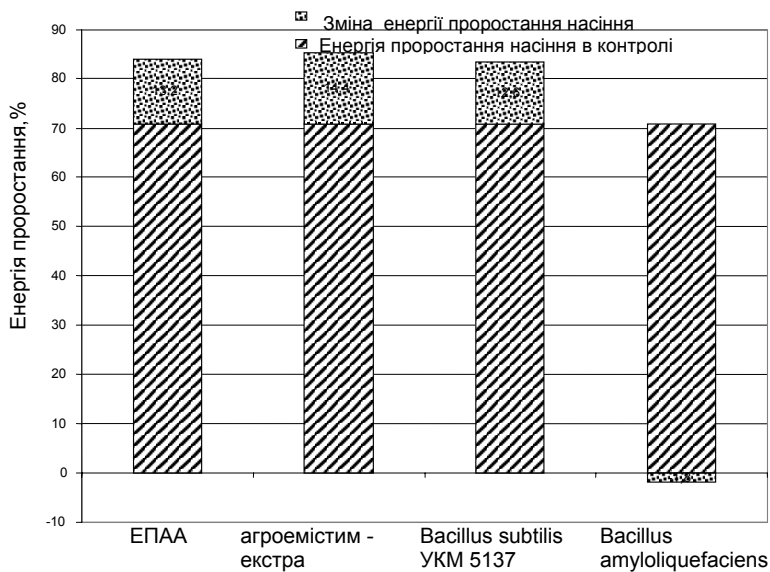


Рис. 2. Вплив біопрепаратів на енергію проростання насіння бобових культур

Таблиця 2. Ефективність впливу біопрепаратів на біометричні показники проростків бобових культур

Варіант досліджу	Культура									
	люпин		соя		боби		горох		вика	
	довжина кореня	висота пагона	довжина кореня	висота пагона	довжина кореня	висота пагона	довжина кореня	висота пагона	довжина кореня	висота пагона
Контроль (без обробки), см	5,1±0,15	1,5±0,14	3,75±0,1	2,5±0,1	3,2±0,1	0,3±0,01	2,78±0,15	0,6±0,01	2,89±0,02	0,68±0
ЕПАА, см	4,7±0,01	2,4±0,02	4,3±0,01	2,6±0,01	4,5±0,03	0,6±0,01	3,9±0,02	0,9±0,01	3,7±0,01	1,1±0
Ефективність, % до контролю	-8,4±0,8	+60,4±0,9	+14,9±0,4	+4±0,35	+40,7±0,6	+100±2	+41,5±1,7	+49,9±1,8	+28±0,4	+61,7±0
Агроємистим-екстра, см	4,5±0,05	1,68±0,01	5,09±0,015	1,85±0,15	4,7±0,05	0,3±0,05	4,02±0,05	0,68±0,02	3,5±0,02	0,9±0,02
Ефективність, % до контролю	-11,8±0,6	+11,8±0,5	+36,1±2	-26±6,7	+46±0,8	0	+44,6±2	+12,7±4,7	+21,1±0,7	+32,3±3
<i>Bacillus subtilis</i> 5137, см	4,8±0,02	2,3±0,03	4,3±0,03	4,86±0,02	4,38±0,01	0,5±0,01	3,5±0,01	0,79±0,03	4,0±0,05	0,98±0,01
Ефективність, % до контролю	-5,5±0,5	+53,9±1,4	+14,5±0,08	+94,4±0,05	+36,7±0,4	+66,6±3,8	+25,9±0,4	31,6±5,6	+37±3,3	+44,1±1,7
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> 5017, см	2,1±0,02	1,12±0,1	3,4±0,02	3,9±0,03	3,0±0,05	0,4±0,05	3,0±0,015	0,65±0,01	3,4±0,01	0,8±0,01
Ефективність, % до контролю	-58±3,4	-25,2±0,8	-9,2±0,4	+56,4±0,8	-6,3±1,7	+35,3±4	+7,9±0,6	+8,3±1,9	+17,5±0,2	+17,6±1,6

Примітка: після знаку “±” наведена статистична похибка експерименту; знак “+” або “-” вказує на підвищення / зниження ефективності того чи іншого препарату порівняно з контролем.

Раніше нами була виявлена фітостимулювальна дія ЕПАА на люпин жовтий сорту Костричник та сіянці дуба [3, 4]. Так, при обробці насіння перед сівбою даним співполімером надземна біомаса рослин люпину збільшилася майже вдвічі, висота – в 1,1 раза, а врожайність – на 0,2 ц/га [3]. Занурення кореневої системи сіянців дуба у 0,8 %-ний розчин ЕПАА сприяло підвищенню їх приживлюваності на 11 %, а їх висота та діаметр збільшувалися на 6 % [4].

В результаті обробки насіння агроємистимом-екстра нами виявлено збільшення на 12,7-46 %, порівняно з контролем, біометричних показників проростків бобів, гороху та вики, але цей вид обробки, порівняно з контролем, спричиняв деяке зменшення довжини кореневої системи проростків люпину та висоти пагонів сої.

Замочування насіння всіх досліджуваних бобових культур у суспензії клітин *B. subtilis* УКМ 5137 приводило до збільшення довжини підземних і висоти надземних органів проростків на 14,5-94,4 % порівняно з контролем. Згаданий вище спосіб обробки насіння дещо несприятливо впливає на довжину кореневої системи проростків люпину.

Застосування суспензії клітин *B. amyloliquefaciens* УКМ 5017 негативно впливає на біометричні показники проростків люпину та довжину кореневої системи сої і бобів. Після обробки суспензією клітин *B. amyloliquefaciens* УКМ 5017 насіння решти досліджуваних культур відмічено незначне підвищення біометричних показників проростків (табл. 2).

Зазначені біопрепарати впливають і на ступінь зараження фітопатогенами насіння різних бобових культур. Показано, що незалежно від способу обробки, найбільш стійким до фітопатогенів виявилось насіння білого люпину сорту Олешка (табл. 3).

Раніше дослідниками [7] була відмічена досить висока стійкість даного сорту до збудників бурої бактеріальної плямистості люпину. Найчутливішими до збудника бурої бактеріальної плямистості були безалкалоїдні (0,001-0,017 % сухої речовини насіння) сорти білого (Володимир, Борки, Пищевой) та жовтого (Обрій і Промінь) люпину, а відносно стійкими – малоалкалоїдні (0,025 % сухої речовини насіння) сорти (Туман, Синій парус, Вересневий, Олешка). Рівень агресивності даного збудника щодо сої, гороху, квасолі, нуту виявився таким самим, як і на безалкалоїдних сортах

люпину [7]. Тобто зазначені дослідники показали, наскільки впливає кількість алкалоїдів у рослинах на їхню стійкість до збудників бурої бактеріальної плямистості; ці дані корелюють з результатами наших дослідів та можуть бути використані в селекційній роботі.

Таблиця 3. Вплив біопрепаратів на стійкість насіння бобових культур до фітопатогенів

Варіант досліджу	Кількість насіння з візуальними ознаками ураження, %				
	люпин	соя	боби	горох	вика
Контроль (без обробки)	–	10	12	10	10
ЕПАА	–	5		3	2
Агроемістим-екстра	–	5	7	9	6
<i>Bacillus subtilis</i> УКМ 5137	–	1	–	–	–
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> УКМ 5017	–	7		2	3

Примітка: знак “–” вказує на відсутність ураженого насіння

Найбільше на стійкість проростків усіх досліджуваних культур впливає замочування їх насіння у суспензії клітин *B. amyloliquefaciens* УКМ 5017, *B. subtilis* УКМ 5137 та розчині ЕПАА. Обробка насіння розчином агроемістиму-екстра зменшує, порівняно з контролем, кількість насіння з візуальними ознаками ураження. Разом з тим, ураженого насіння, що не дало нормальних проростків після обробки цим препаратом, виявлено значно більше, ніж після його замочування в суспензії клітин *B. subtilis* УКМ 5137, *B. amyloliquefaciens* УКМ 5017 та у розчині ЕПАА (табл. 3). Попередньо нами відмічено також меншу у 1,7 раза ураженість вірусом жовтої мозаїки квасолі рослин люпину сорту Кастричник та у 1,6-1,2 раза – ураженість насіння збудниками грибної та бактеріальної етіології після обробки розчином ЕПАА, порівняно з аналогічною обробкою фундазолом [3].

Таким чином, показано позитивний вплив обробки насіння люпину, сої, бобів, гороху і вики агроемістимом-екстра, ЕПАА, *Bacillus subtilis* УКМ 5137 на енергію проростання, схожість, а також біометричні показники проростків. Найефективніше впливає обробка цими препаратами на енергію проростання насіння.

Крім того, під впливом суспензії клітин *B. subtilis* УКМ 5137, *B. amyloliquefaciens* УКМ 5017 та розчину ЕПАА збільшується

стійкість проростків бобових культур до патогенів різної етіології. Після замочування насіння в агроемістимі-екстра у 1,5 раза зменшується, порівняно з контролем, кількість ураженого насіння, яке не дає нормальних проростків, але дія цього препарату є менш ефективною, ніж дія *B. amyloliquefaciens* УКМ 5137, *B. subtilis* УКМ 5009 та ЕПАА.

1. Анишин Л.А., Пономаренко С.П., Жилкин В.О., Грицаенко З.М. Технологии применения регуляторов роста растений в земледелии: Методическое пособие / Межведомственный научно-технологический центр “Агробиотех” НАНУ и МОН Украины. – 2006. – 32 с.

2. Бельтюкова К.И., Королева И.Б. Мурас В.А. Бактериальные болезни зернобобовых культур. – К.: Наук. думка, 1974. – 339 с.

3. Воцелко С.К., Гвоздяк Р.І., Литвинчук О.О. та ін. ЕПАА – універсальний приліплювач до рослин препаратів різної природи // Міжнар. наук. конфер. “Фітопатогенні бактерії. Фітонцидологія. Алелопатія” (м. Київ, 4-6 жовтня, 2005): Зб. статей. – К.: Альфа-Прайм, 2005. – С. 197-201.

4. Воцелко С.К., Литвинчук О.О., Ведмідь М.М. та ін. Ефективність застосування препарату ЕПАА в лісовому господарстві // Наук. вісник Одеського нац. ун-ту. – 2005. – Т. 10, Вип. 7. – С. 237-243.

5. Воцелко С.К., Литвинчук О.О., Токарчук Л.В. та ін. Липкогенні носії для системного захисту сільськогосподарських культур на основі мікробних полісахаридів // Наук. вісник Ужгородського нац. ун-ту. Сер. Біологія. – 2001. – С. 147-149.

6. Гвоздяк Р.І., Воцелко С.К., Литвинчук О.О., Данкевич Л.А. Фізико-хімічні та липкогенні властивості ЕПАА як фактора захисту доквілля // Наук. вісник Одеського нац. ун-ту. – 2001. – Т. 6, Вип. 4. – С. 58-60.

7. Данкевич Л.А., Гвоздяк Р.І. Патогенні та біохімічні властивості збудника бурої бактеріальної плямистості люпину *Pseudomonas lupini* // Агроекол. журн. – 2005. – № 1. – С. 63-68.

8. ДСТУ 2240-93. Насіння сільськогосподарських культур. Сортові та посівні якості. Технічні умови. – К.: Держстандарт України, 1994. – 74 с.

9. Лапа С.В., Рева О.Н. Деякі властивості штамів *Bacillus subtilis*, активних щодо збудників гнилей плодів і ягід // Мікробіол. журн. – 2005. – Т. 67, № 1. – С. 22-32.

10. Лапа С.В., Житкевич Н.В., Кирик М.М. Препарат спорофіт як засіб захисту від фітопатогенних бактерій // Міжнар. наук. конфер. “Фітопатогенні бактерії. Фітонцидологія. Алелопатія” (м. Київ, 4-6

жовтня, 2005): 3б. статей. – К.: Альфа-Прайм, 2005. – С. 69.

11. Пат.13205 А Україна, МПК⁶ А01С1/06. Склад захисту овочевих культур. Спосіб обробки насіння / Воцелко С.К., Гвоздяк Р.І., Данилова Л.К. та ін. – Опубл.28.02.97, Бюл. № 1.

12. Пат.2392 А Україна, МПК⁴ А01С1/06. Спосіб обробки насіння / Гвоздяк Р.І., Воцелко С.К., Данилова Л.К. та ін. – Опубл. 26.12.94, Бюл.№5.

13. Пат.24856 А Україна, МПК⁶ С08F220/56. Спосіб одержання співполімеру поліакриламід (ЕПАА) / Видющенко Є.М., Воцелко С.К., Гвоздяк Р.І. та ін. – Опубл. 2002, Бюл. № 10.

14. Біологічний азот / Патица В.П., Коць С.Я., Волкогон В.В. та ін. – К: Світ, 2003. – 424 с.

15. Рева О.Н. Полиморфизм генів нерибосомальних поліпептид-синтез у представителів *Bacillus* // Мікробіол. журн. – 2005. – Т. 67, № 6. – С. 12-24.

**РОЛЬ ОБРАБОТКИ СЕМЯН БОБОВЫХ
КУЛЬТУР БИОЛОГИЧЕСКИМ ПРЕПАРАТОМ
ЕПАА В ПОВЫШЕНИИ ИММУНИТЕТА И
ПРОДУКТИВНОСТИ РАСТЕНИЙ**

Воцелко С.К., Лапа С.В., Данкевич Л.А.

Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного
НАНУ, г. Киев

Показано позитивное влияние обработки семян люпина, сои, бобов, гороха и вики агроэмистимом-экстра, ЭПАА, Bacillus subtilis УКМ 5137 на их энергию прорастания, всхожесть, а также биометрические показатели проростков. Установлено, что обработка семян данных культур B. subtilis УКМ 5137, B. amyloliquefaciens УКМ 5017 и ЭПАА значительно повышает устойчивость растений к фитопатогенам.

Ключевые слова: *агроэмистим-экстра, ЭПАА, Bacillus subtilis УКМ 5137, Bacillus amyloliquefaciens УКМ 5017.*

**THE SIGNIFICANCE OF LEGUMES SEEDS
TREATMENT WITH EPAA IMPROVE BOTH THEIR
RESISTANCE AGAINST PHYTOPATHOGENES AND
PRODUCTIVITY**

Votselko S.K., Lapa S.V., Dankevitch L.A.

Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, NAS of Ukraine,
Kyiv

The positive influence of lupine, soy bean, peas and vetch seeds treatment with Agroemistime-extra, EPAA, Bacillus subtilis UCM 5137 on seed's vigour, germination and biometry index of plants was shown. It was determined, that the legumes seed's treatment with EPAA, Bacillus subtilis UCM 5137, Bacillus amyloliquefaciens UCM 5017 has increased significantly the plant's resistance against phytopathogenes.

Key words: *Agroemistime-extra, EPAA, Bacillus subtilis UCM 5137, Bacillus amyloliquefaciens UCM 5017.*