

І. Семенюк¹, А. Баня¹, І. Карпенко¹, Г. Мідяна¹, О. Карпенко¹, В. Лубенець²

¹Відділення фізико-хімії горючих копалин
ІнФОВ ім. Л. М. Литвиненка НАН України

²Національний університет “Львівська політехніка”,
кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології

РОЗРОБЛЕННЯ ПРЕПАРАТІВ НА ОСНОВІ ГУМАТІВ ТА ЇХ КОМПОЗИЦІЙ З ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИМИ РАМНОЛІПІДАМИ ДЛЯ РОСЛИННИЦТВА

© Семенюк І., Баня А., Карпенко І., Мідяна Г., Карпенко О., Лубенець В., 2016

Отримано препарати на основі гумінових кислот, виділених з біогумусу, а також їх композиції з біогенними рамноліпідними ПАР штаму *Pseudomonas* sp. PS-17. Показано, що розроблені продукти при передпосівному обробітку насіння різних рослин (пшениці, соняшника, сорго, гороху польового) сприяли значному підвищенню морфометричних показників досліджуваних рослин. Результати роботи вказують на перспективність використання створених препаратів на основі гумінових кислот та їх композицій з рамноліпідними ПАР як регуляторів росту і засобів живлення рослин в екологічно безпечних технологіях вирощування важливих сільськогосподарських культур.

Ключові слова: гумінові кислоти, рамноліпідні ПАР, пшениця, соняшник, сорго, горох польовий, ростові показники.

I. Semeniuk, A. Banya, I. Karpenko, G. Midyana, O. Karpenko, V. Lubenets

DEVELOPMENT OF PREPARATIONS BASED ON HUMATES AND THEIR COMPOSITIONS WITH RAMNOLIPID SURFACTANTS FOR PLANT GROWING

© Semeniuk I., Banya A., Karpenko I., Midyana G., Karpenko O., Lubenets V., 2016

The means based on humic acids extracted from vermicompost and their nutrient composition with rhamnolipid biosurfactants of strain *Pseudomonas* sp. PS-17 were developed. It is shown that these products under presowing treatment of seeds of various plants (wheat, sunflower, sorghum, field peas) promoted a significant increase morphometric parameters of studied plants. The results point to the prospects of using of designed means on the basis of humic acids and their compositions with rhamnolipid biosurfactants as growth regulators and means for plants nutrient in environmentally friendly technologies cultivation of important crops.

Key words: humic acids, rhamnolipid biosurfactants, wheat, sunflower, sorghum, field peas, growth parameters.

Постановка проблеми та її зв'язок з важливими науковими завданнями. За останні десятиліття інтенсивного використання ґрунтів під вирощування сільськогосподарських культур із верхніх шарів пашні використано в середньому 50 % запасу гумусу – найважливішої складової органічної речовини ґрунту, основним компонентом якої є гумінові кислоти (ГК), що спричинило збіднення ґрунтів і значно посилило процеси міграції основних поживних елементів в нижчі горизонти. Безпечне для довкілля землеробство (без шкоди для родючості), наявність бездефіцитного балансу гумусу зумовлюють необхідність внесення на поля крім мінеральних

добрив також і органічних. Одним із видів орґано-мінеральних добрив є гумати натрію, калію або амонію – водорозчинні солі ГК [1].

Завдяки своїм біологічним властивостям гумати більш доступні для кореневої системи рослин, як біополімери забезпечують високу ємність катіонного і аніонного обміну, хелатну здатність, можуть стимулювати ріст, забезпечувати азотне і зольне живлення рослин [2].

Зазвичай джерелом для отримання гуматів є органічні поклади – буре вугілля, низинний торф, сапропелі озерні. Значно меншою мірою використовуються відновлювальні ресурси – гній, компости, вермикомпости (біогумуси), які є безпечними для довкілля. Тому актуальною проблемою є розроблення раціональних методів отримання гуматів, а також пошук шляхів підвищення їх ефективності і стабільності дії. Для цього можуть бути використані й поверхнево-активні речовини, насамперед біогенні (біоПАР), завдяки їх фізико-хімічним і біологічним властивостям.

Аналіз останніх досліджень та публікацій. Препарати на основі гумінових речовин сьогодні все більше поширені під час розроблення сучасних агротехнологій, вони можуть функціонувати як поживні речовини для вирощування рослин або ж відігравати роль фізіологічно активних регуляторів росту [3, 4]. Одним з елементів таких технологій може бути використання гумінових препаратів, одержаних із біогумусу, що є продуктом переробки органічних відходів технологічними черв'яками. Маючи велику кількість різноманітних функціональних груп, ГК здатні адсорбувати і утримувати на собі поживні речовини, макро- й мікроелементи ґрунту. Адсорбовані гуміновими кислотами поживні речовини не зв'язуються ґрунтовими мінералами і не вимиваються водою, перебуваючи в доступному для рослин стані. Разом з тим ГК позитивно впливають на розмноження різних груп мікроорґанізмів у ґрунті [5].

Для підвищення якості та ефективності препаратів гумінових кислот як органічного добрива і для збагачення ґрунту рухомими формами макро- та мікроелементів, на нашу думку, доцільним є використання ПАР мікробного походження. У відділі хімії і біотехнології Відділення фізико-хімії ГК ІнФОВ НАН України отримано та вивчено поверхнево-активні речовини, які є продуктами мікробного синтезу штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 – супернатант культуральної рідини, рамноліпіди, полісахариди та їхні комплекси [6]. В наших попередніх роботах показано, що застосування біоПАР для передпосівного обробітку насіння люцерни, вики озимої, ріпаку тощо збільшує енергію пророщення й стимулює розвиток паростків [7]. Встановлено, що за рахунок властивостей (вплив на проникність клітинних мембран, модифікації поверхонь, солюбілізації слабо розчинних препаратів тощо) біогенні ПАР можуть бути регуляторами росту рослин – для передпосівного оброблення насіння [7, 8], позакореневого оброблення рослин, а також використовуватися у композиціях із засобами живлення, захисту рослин, стимуляторами росту [10, 11], у комплексних біодобривах на основі азотфіксувальних мікроорґанізмів [12]. БіоПАР можуть сприяти також підсиленню дії фітогормонів, наприклад індоліл-3-оцтової кислоти [8], що можна використовувати для розроблення комплексних стимуляторів росту.

Мета роботи. Одержання гуматів – калієвих екстрактів з біогумусу (ГМ) й органічної фракції екстракту – гумінових кислот (ГК), а також дослідження впливу поверхнево-активного рамноліпідного біокомплексу на їх ефективність щодо різних рослин (соняшник, пшениця, сорго, горох польовий).

Матеріали і методи досліджень. Об'єктом дослідження були гумінові кислоти, отримані з біогумусу, що є продуктом переробки (ферментації) органічних відходів технологічними каліфорнійськими черв'яками *Eisenia foetida* (ТУ У 13649334022-99). Гумінові кислоти та їхні гумати одержували методом лужної екстракції за методикою, розробленою у ВФХГК ІФОХВ ім. Л. М. Литвиненка.

Екстракцію гумінових кислот проводили 1 % розчином гідроксиду калію за постійного перемішування впродовж 30 хв за температури 50 °С. Твердий залишок відділяли на центрифугу ULAB (Німеччина) за 5000 об/хв. Одержаний розчин підкислювали 5 % розчином соляної кислоти до рН < 2. Гумінові кислоти, що випадали в осад, відділяли центрифугуванням (5000 об/хв),

промивали на фільтрувальному папері дистильованою водою до від'ємної проби на хлорид-йони, очищений осад висушували за температури 50 °С до постійної маси.

У роботі використовували поверхнево-активний рамноліпідний біокомплекс (РБК) – продукт біосинтезу штаму *Pseudomonas* sp. PS-17, що містить рамноліпіди і полісахарид (4:1). РБК виділяли з супернатанту культуральної рідини шляхом додавання 10N HCl до рН 3,0 [13].

У дослідженнях використовували рослини: сорго суданська трава, горох польовий, пшениця озима (сорту Миронівська 60), соняшник (сорту Чумак).

Передпосівне оброблення насіння проводили за загальноприйнятою методикою за ДСТУ 4138-2002 [14]: відкаліброване насіння замочували впродовж 1 год у досліджуваних розчинах. Експерименти з рослинами проводили у лабораторних умовах на чашках Петрі (7 діб), а також у вегетаційних дослідах в ємностях з ґрунтом об'ємом 0,5 кг (впродовж 45 діб) у 4-х повторах.

Результати та обговорення. Препарати на основі калієвих екстрактів гумінових кислот було вперше одержано з біогумусу, який належить до відновлювальних, екологічно безпечних ресурсів, тобто має переваги порівняно з більш розповсюдженими сьогодні джерелами ГК. Із калієвих екстрактів гумінових кислот також послідовно було виділено інший препарат – гумінові кислоти.

Із застосуванням низки методів титриметричного аналізу (баритовий, кальцій-ацетатний) визначено кількісний склад функціональних груп гумінових кислот, які мають кислий характер. Ці показники є важливими характеристиками одержаних препаратів ГК. Встановлено, що загальна кислотність отриманих з біогумусу гумінових кислот становить 8,3 ммоль/г, їх карбоксильна кислотність – 4,49 ммоль/г, а фенольна кислотність ГК дорівнює 3, 81 ммоль/г.

Для визначення впливу отриманих препаратів на рослини та їх практичних перспектив проведено експерименти з важливими сільськогосподарськими культурами: соняшником, пшеницею, сорго, горохом польовим. Показано, що передпосівне оброблення насіння розчинами створених препаратів сприяло стимулюванню росту і розвитку проростків рослин (табл. 1–4).

Таблиця 1

Ростові показники соняшника сорту Чумак за передпосівного оброблення насіння розчинами гуматів, рамноліпідного біокомплексу та їх композиціями

Препарати для оброблення насіння, г/л	Довжина пагона, см	Довжина кореня, см	Маса пагона, г	Маса кореня, г
Контроль (вода)	3,67	0,23	7,23	0,52
ГМ 0,09	4,98	0,36	9,25	0,71
ГМ 0,09 + РБК	5,13	0,27	9,54	0,69
ГМ 0,045	5,01	0,29	8,16	0,85
ГМ 0,045 + РБК	4,23	0,34	9,23	0,73
ГК 0,09	5,13	0,34	9,16	0,84
ГК 0,09 + РБК	5,80	0,38	8,78	0,83
ГК 0,045	5,67	0,38	9,18	0,77
ГК 0,045 + РБК	5,31	0,31	8,23	0,85
РБК 0,01	3,98	0,24	8,1	0,62

Примітки. ГМ – калієвий екстракт з біогумусу; ГК – гумінові кислоти; РБК – рамноліпідний біокомплекс.

Як свідчать наведені дані (табл. 1), ростові показники важливої сільськогосподарської культури – соняшнику (харчової, кормової, технічної) – суттєво підвищувалися під впливом одержаних препаратів на основі гуматів. При цьому кращими були результати при застосуванні композицій ГК 0,09 г/л + РБК 0,01 г/л – довжина пагона збільшувалася на 58 %, довжина кореня – на 65 %; для соняшнику довжина проростків збільшилась на 54 % (ГК 0,045 г/л), а маса – на 63 % (ГМ 0,045 г/л).

**Вплив гуматів і рамноліпідного біокомплексу
на ростові показники пшениці озимої (за передпосівного оброблення насіння)**

Препарати для оброблення насіння, г/л	Довжина пагона, см	Довжина кореня, см	Маса пагона, г	Маса кореня, г
Контроль (вода)	10,38 ± 0,55	5,14 ± 0,38	0,053	0,028
ГМ 0,09	11,73 ± 0,23	8,45 ± 0,50	0,068	0,046
ГМ 0,09+ РБК	13,78 ± 0,22	8,95 ± 0,62	0,075	0,046
ГК 0,09	11,16 ± 0,34	6,83 ± 0,47	0,073	0,053
ГК 0,09+ РБК	13,13 ± 0,51	8,81 ± 0,66	0,075	0,044
РБК (0,01)	12,87 ± 0,40	8,11 ± 0,27	0,070	0,052

Примітки: ГМ – калієвий екстракт з біогумусу; ГК – очищені гумінові кислоти; РБК – рамноліпідний біокомплекс.

Було досліджено також ефективність розроблених біопрепаратів на пшеницю озиму, яка є представником злакових культур. Для цієї рослини найкращий результат було отримано при обробленні насіння препаратами на основі композицій гуматів з РБК (0,01 г/л) – морфометричні показники зростали на 30–50 %.

Під впливом створених препаратів збільшувалися також і морфометричні показники проростків іншої злакової культури – сорго (табл. 3).

Таблиця 3

Морфометричні показники сорго за дії гуматів і рамноліпідного біокомплексу

Препарати для оброблення насіння, г/л	Довжина пагона, см	Довжина кореня, см	Маса пагона, г	Маса кореня, г
Контроль (вода)	7,55 ± 0,23	6,67 ± 0,72	0,039	0,013
ГМ 0,045	7,70 ± 0,28	6,35 ± 0,15	0,088	0,022
ГМ 0,09	8,62 ± 0,77	7,70 ± 0,60	0,048	0,016
ГМ 0,045+ РБК	9,12 ± 0,36	9,00 ± 0,50	0,050	0,018
ГМ 0,09+ РБК	9,16 ± 0,47	6,96 ± 0,27	0,046	0,018
ГК 0,045	7,42 ± 0,40	6,00 ± 0,49	0,034	0,008
ГК 0,09	8,14 ± 0,40	7,38 ± 0,66	0,042	0,015
ГК 0,045+ РБК	8,40 ± 0,52	8,6 ± 0,65	0,044	0,018
ГК 0,09+ РБК	7,38 ± 0,57	6,52 ± 0,31	0,054	0,014
РБК 0,01	8,12 ± 0,39	6,7 ± 0,31	0,046	0,018

Примітки: ГМ – калієвий екстракт з біогумусу; ГК – гумінові кислоти; РБК – рамноліпідний біокомплекс.

Встановлено, що при використанні препарату гумінових кислот (0,09 г/л) довжина пагона була більшою на 14 %, його маса – на 125 % (ГК 0,045 г/л) порівняно з контролем. Показано, що при сумісному використанні гуматів з РБК покращувалася ефективність гуматів. Так, довжина проростків сорго збільшилась на 21 % (ГК 0,09+РБК), маса – на 38 % (ГМ 0,09+РБК); для соняшнику довжина – на 58 % (ГК 0,09+РБК), маса – на 63 % (ГК 0,045 +РБК).

Наступним етапом було вивчення дії розроблених препаратів на рослини у вегетативному досліді, який проведено з пшеницею озимою.

Отримані результати свідчать, що використання гумату калію, рамноліпідного біокомплексу та їх композицій для передпосівного оброблення насіння пшениці сприяло значному збільшенню ростових показників рослин. Кращі результати отримано у варіантах з комплексним застосуванням гумату калію і рамноліпідного біокомплексу: за довжиною пагонів – на 26 %, довжиною коренів – на 35 %, масою пагонів – на 27 %. Слід зазначити, що використання композиції для передпосівного оброблення насіння пшениці сприяло збільшенню маси коренів більше ніж утрічі відносно контролю. На нашу думку, така позитивна дія комплексності препаратів полягає насамперед у збільшенні проникності клітинних мембран коренів пшениці, що створює умови для поліпшення проникненню поживних речовин та мікроелементів з ґрунту у рослину.

Таблиця 4

Морфометричні показники гороху польового за передпосівного оброблення насіння розчинами гуматів і рамноліпідного біокомплексу

Препарати для оброблення насіння, г/л	Довжина пагона, см	Довжина кореня, см	Маса пагона, г	Маса кореня, г
Контроль (вода)	5,93 ± 0,32	5,53 ± 0,60	0,493	0,122
ГМ 0,045	4,97 ± 0,36	10,05 ± 0,53	0,425	0,155
ГМ 0,09	5,37 ± 0,38	6,85 ± 0,54	0,479	0,120
ГМ 0,045+РБК	4,79 ± 0,18	8,64 ± 0,25	0,417	0,151
ГМ 0,09+РБК	5,80 ± 0,21	8,23 ± 0,17	0,460	0,171
ГК. 0,045	3,56 ± 0,33	3,51 ± 0,16	0,478	0,087
ГК 0,09	3,65 ± 0,48	4,97 ± 0,73	0,452	0,145
ГК 0,045+РЛ	4,83 ± 0,15	5,92 ± 0,62	0,502	0,126
ГК 0,09+РЛ	4,65 ± 0,25	8,50 ± 0,33	0,454	0,149
РБК (0,01)	5,43 ± 0,27	6,42 ± 0,14	0,465	0,153

Примітки: ГМ – калієвий екстракт з біогумусу; ГК – гумінові кислоти; РБК – рамноліпідний біокомплекс.

Таблиця 5

Морфометричні показники у пшениці озимій за дії гуматів і рамноліпідного біокомплексу у вегетативному досліді

Препарати для оброблення насіння, г/л	Довжина пагона, см	Довжина кореня, см	Маса пагона, г	Маса кореня, г
Контроль (вода)	36,5±1,39	24,4±0,93	0,167±0,023	0,271±0,017
ГК 0,09	37,9±3,02	27±0,89	0,155±0,008	0,328±0,020
РБК 0,01	38,42±1,74	26,5±1,09	0,293±0,024	0,402±0,036
ГК + РБК	46,13±1,50	33±1,45	0,380±0,017	0,910±0,056

Примітки: ГК – гумінові кислоти; РБК – рамноліпідний біокомплекс

Одним із показників ефективності дії біопрепаратів на рослини є інтенсивність процесу фотосинтезу і як наслідок накопичення ними органічної речовини, оскільки ці процеси є біологічною основою формування врожаю. До основних показників фотосинтетичної системи рослин та продуктивності процесу агрофітоценозів належать вміст хлорофілів *a* і *b*, їх сумарний вміст *a+b* та вміст каротиноїдів *k*.

Таблиця 6

Вміст пігментів фотосинтезу у пшениці озимій за дії гуматів та рамноліпідного біокомплексу

Препарати для оброблення насіння, г/л	хлорофіл <i>a</i> мг/г сирової маси рослини	хлорофіл <i>b</i> мг/г сирової маси рослини	хлорофіли <i>a+b</i> мг/г сирової маси рослини	каротиноїди <i>k</i> мг/г сирової маси рослини
Контроль	1,029±0,0088	1,959±0,0459	2,989±0,0374	0,705±0,0084
ГК 0,09 %	1,032±0,0035	2,014±0,0108	3,046±0,0133	0,713±0,0055
РБК 0,01 г/л	1,053±0,0206	2,036±0,0439	3,089±0,0427	0,716±0,0171
ГК + РБК	1,025±0,0053	1,902±0,0454	2,927±0,0475	0,705±0,0070

Примітки: ГК – гумінові кислоти; РБК – рамноліпідний біокомплекс

Дослідженнями встановлено збільшення вмісту пігментів фотосинтезу у низці варіантів, зокрема при передпосівному обробленні насіння пшениці препаратами гумату калію та рамноліпідного біокомплексу, проте при комплексному застосуванні ГК і РБК результати були в межах контролю. Отже, можна припустити, що ГК і РБК значно впливали на асиміляційну здатність рослин внаслідок інтенсивного росту і накопиченню великої біомаси у перших фазах розвитку рослин.

Отже, у результаті проведених експериментів було встановлено, що передпосівне оброблення насіння досліджених рослин (олійних, злакових, бобових) отриманими препаратами гумату калію, гумінових кислот та поверхнево-активного рамноліпідного біокомплексу сприяло збільшенню морфометричних показників проростків, вегетативної маси рослин. Виявлено, що ефективність гуматів та гумінових кислот підсилюється за їх комплексного застосування з поверхнево-активним рамноліпідним біокомплексом. Такий ефект біогенних ПАР можна пояснити, на нашу думку, їх впливом на проникність клітинних мембран та підвищення активності ферментних систем рослин. Ймовірно також, що в результаті застосування біоПАР у композиціях з гуматом калію для передпосівного оброблення насіння активується розвиток кореневої системи рослин, а саме посилюється поглинання води та поживних речовин, збільшується біомаса рослин та активується загальний обмін речовин, що сприяє збільшенню вмісту пігментів фотосинтезу та нагромадженню рослинами вуглеводів, а в кінцевому рахунку, підвищує врожайність сільськогосподарських культур.

Висновки. Вперше розроблено нові препарати на основі гумінових кислот, виділених з біогумусу, а також їх композицій з рамноліпідними поверхнево-активними речовинами штаму *Pseudomonas* sp. PS-17. Показано, що створені продукти є ефективними регуляторами росту й засобами живлення рослин, про що свідчить значне підвищення морфометричних показників представників злакових, олійних і бобових рослин. Результати роботи вказують на перспективність використання композицій на основі гумітів, одержаних з відновлювальної сировини, у сучасних екологічно безпечних технологіях вирощування важливих сільськогосподарських культур.

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. Горюва А. И., Орлов Д. С., Щербенко О. В. Гуминовые вещества. Строение, функции, механизм действия, протекторные свойства, экологическая роль. – К.: Наукова думка, 1995. – 302 с. 3. Panina O., Zilyakova T. Increase of productivity of farm animals with the help of oxidate, a peat humic preparation // Moorthérapie 2000 / Peat Therapy on it's Way into the next Millennium. - Bad Kissinger (Germany). – 2000. – P. 233–244. 4. Титов И. Н. Способ получения комплексного биопрепарата для обработки растений и почвы из гумусосодержащих веществ. Патент РФ № 2009126851, 15.07.2009 г. 5. Лучник Н. А., Иванов А. Е., Меркулов А. І. Гумати натрію на посівах зернових культур // Хімія в сільському господарстві. – 1997. – № 2. – С. 28–30. 6. Экстракционное выделение биогенных поверхностно-активных рамнолипидов / И. В. Карпенко, Г. Г. Мидяна, Е. В. Карпенко, Е. Я. Пальчикова, Р. Г. Макитра // Журнал общей химии. – 2014. – Т. 84. – С. 1172–1175. 7. Пат. № 77228 Україна, МПК (201301), А01Р 21/00, А01N 63/00, С12N 1/02, С 12R 1/38. Препарат комплексної дії для використання у сільському господарстві та рекультивациі техногенно змінених ґрунтів / О. Карпенко, Н. Щеглова, Р. Вільданова, А. Шульга, В. Баранов. Опубл. 11.02.2013. Бюл. № 3. 8. Карпенко І. В., Мідяна Г. Г., Карпенко О. Я., Баранов В. І. Вплив біогенних поверхнево-активних речовин на ріст олійних культур. Вісник Національного університету “Львівська політехніка” // Хімія, технологія речовин та їх застосування, 2014 – №. 787. – 2014. – Р. 254–257. 9. Карпенко О. В., Корецька Н. І., Щеглова Н. С., Карпенко І. В., Баранов В. І. Стимулювання росту злакових рослин поверхнево-активними рамноліпідами // Biotechnologia Acta. – 2013. – Т. 6. – № 6. – С. 94–99. 10. Е. Карпенко, Н. Щеглова, В. Новик. Использование биогенных поверхностно-активных веществ для повышения эффективности обработки семенного материала озимой пшеницы // daRostim: IX міжнар. наук.-практ. конф., 7–10 жовтня 2013: тези допов. – Львів, 2013. – С. 42–53. 11. Pat. 652Z Republic of Moldova A01C 21/00 A01G 17/02 A01N 63/00 C05D 9/02. Process of cultivating cuttings of grape vines / Veliksar S., Lemanova N., Karpenko E., Shcheglova N. pub. 31.07.2013, ВОПІ, No. 7/2013. 12. Пат. 36704 Україна МПК А01N 25/30 А01N 59/06 А01N 63/00 С12N 1/20. Біопрепарат для бобових і злакових рослин / Лісова Н., Карпенко О. В., Вільданова Р. І., Щеглова Н. С., Козуб Ю. Б., Наконечний М. В.; опубл. 10.11.2008, Бюл. №12. 13. Карпенко Е. В., Покиньюброда Т. Я., Макитра Р. Г., Пальчикова Е. Я. Оптимальные методы выделения биогенных поверхностно-активных рамнолипидов // Журнал общей химии. – 2009. – № 12. – 2011 с. 14. ДСТУ 4138-2002. Насіння сільськогосподарських культур. Методи визначення якості. Чинний від 2004-01-01. – К.: Держспоживстандарт України, 2003. – 173 с.