

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
УМАНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УІВЕРСИТЕТ САДІВНИЦТВА

КАФЕДРА БІОЛОГІЇ

## **БІОЛОГІЧНО АКТИВНІ РЕЧОВИНИ В РОСЛИННИЦТВІ**

### **МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ**

для виконання практичних робіт  
студентів факультету плодовоочівництва,  
екології та захисту рослин за спеціальність  
091 «Біологія»



Умань 2021

**Методичні рекомендації підготувала:**

кандидат с.-г. наук, доцент Розборська Л.В., кандидат с.-г. наук Даценко А.А.

Розглянуто та затверджено на засіданні кафедри біології (протокол від 20 серпня 2021 року №1)

**Рецензент:** – Улянич О.І. , доктор с.-г. наук, професор кафедри овочівництва Уманського НУС

Схвалено науково-методичною комісією факультету плодоовочівництва, екології та захисту рослин (Протокол від 2021 року № ).

Біологічно активні речовини в рослинництві: Методичні рекомендації для виконання практичних робіт студентів факультету плодоовочівництва, екології та захисту рослин за спеціальністю 091 «Біологія» / Розборська Л.В., Даценко А.А. / Умань, 2021. – 58 с.

## ЗМІСТ

Передмова .....	4
Структура навчальної дисципліни .....	5
<b>Практична робота № 1.</b> Правила техніки безпеки при роботі в лабораторіях.....	
Основні групи біологічно активних речовин.....	
<b>Практична робота № 2.</b> Загальна схема виробництва біологічно активних речовин.....	
<b>Практична робота №3.</b> Рослинні біологічно активні речовини, способи їх виділення. Алкалоїди.....	
<b>Практична робота № 4.</b> Стадії очищення біологічно активних речовин. Методи осадження БАР.....	
<b>Практична робота № 5.</b> Розділення БАР за допомогою мембран. Діаліз і електродіаліз, ультрафільтрація.....	
<b>Практична робота № 6.</b> Розділення БАР за допомогою мембран. Зворотний осмом, сорбція і сорбційні процеси.....	
<b>Практична робота № 7.</b> Промислове виробництво БАР із культури клітин рослин. Підготовка середовища для культивування продуцента посівного матеріалу.....	
<b>Практична робота № 8.</b> Промислове виробництво БАР із культури клітин рослин. Біосинтез БАР.....	
<b>Практична робота № 9.</b> Загальна характеристика РРР. Особливості дії фітогормонів на ріст і розвиток тканин і органів, формування насіння і плодів.....	
<b>Практична робота №10.</b> Вплив БАР на ріст і морфогенез рослин. Механізм дії фітогормонів. Використання фітогормонів і фізіологічно активних речовин. ....	
<b>Практична робота № 11.</b> Проблеми застосування регуляторів росту рослин при вирощування садивного матеріалу.....	
<b>Практична робота 12.</b> Спектри функціональної активності основних біоагентів мікробіологічних препаратів. Стан та перспективи використання БАР у біологічному землеробстві.....	
<b>Практична робота № 13.</b> Біологічно активні речовини лікарських рослин.....	
<b>Практична робота № 14.</b> Біологічно активні речовини рослинного походження з антибіотичними властивостями.....	
Список літератури:.....	

## ПЕРЕДМОВА

В умовах сьогодення розвиток сільськогосподарського виробництва в інтегрованих системах захисту рослин використання біологічного методу набуває все більшого поширення, оскільки він базується на застосуванні нових ефективних та екологічно безпечних регуляторів росту і розвитку рослин, мікробіологічних препаратів, які здатні регулювати процеси життєдіяльності рослин та ґрунтової мікрофлори спрямовано, мобілізувати потенційні можливості, закладені у геномі природою і селекцією. Крім того, біологічно активних речовин у рослинництві, на сьогодні, – реальний шлях зменшення забруднення довкілля, відтворення природної родючості ґрунтів, отримання екологічно чистої високоякісної продукції. Саме завдяки біологічним препаратам відбувається інтенсифікація сільськогосподарського виробництва з одночасним скороченням енергетичних, грошових і матеріальних витрат на застосування агрохімікатів, а продукція рослинництва стає високорентабельною та конкурентно-спроможною.

**Метою** дисципліни «Біологічно активні речовини в рослинництві» є цілеспрямована підготовка фахівців, здатних застосовувати біологічний метод як один із основних напрямків вдосконалення сільського господарства. А також, сформувані уявлення про основні класи біологічно активних речовин, їх поширення у природі, властивості та взаємодію з рослинами ознайомити із різноманітністю і поширенням джерел біологічно активних речовин природного походження та показати їх місце в агробіоценозі.

**Завдання:** - формування у студентів уявлення про біологічно активні речовини – природу їх походження, види, структуру, вміст у рослинній речовині;

- ознайомлення з методами виділення та подальшого використання біологічно активних речовин;

- ознайомлення з методами створення та механізмом дії регуляторів росту рослин та мікробіологічних препаратів;

- ознайомлення та дослідження впливу регуляторів росту рослин і мікробіологічних препаратів на зміну фізіолого-біохімічних процесів у рослинах

- отримання студентами практичних навичок застосування біологічно активних речовин у сучасних технологіях вирощування сільськогосподарських культур.

## ОРИЄНТОВАНА СТРУКТУРА НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ

Назва змістових модулів і тем	Кількість годин											
	Денна форма						Заочна форма					
	усього	У тому числі					усього	У тому числі				
		л	п	лаб	інд	с.р.		л	п	лаб	інд	с.р.
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
<b>М 1. ВСТУП ДО ДИСЦИПЛІНИ «БІОЛОГІЧНО АКТИВНІ РЕЧОВИНИ В РОСЛИННИЦТВІ». КЛАСИФІКАЦІЯ, СКЛАД, ВПЛИВ БАР НА РОСЛИННИЙ ОРГАНІЗМ</b>												
<b>ЗМ 1. Основні групи біологічно активних речовин.</b>												
<b>Тема 1.</b> Характеристика та специфіка дії регуляторів росту рослин.	13	2	2			9						
<b>Тема 2.</b> Мікробіологічні препарати як складова інноваційних, екологічно безпечних технологій вирощування сільськогосподарських культур.	13	2	2			9						
<b>Тема 3.</b> Фізіологічні зміни в рослинах і мікробіологічні в ґрунті за дії біологічних препаратів.	16	2	4			10						
Разом за змістовний модуль 1.		6	8			28						
<b>ЗМ 2. Перспективи створення і використання препаратів на основі біологічно активних речовин.</b>												
<b>Тема 4.</b> Сучасний стан та перспективи виробництва біологічно активних речовин в сільському господарстві.	13	2	2			9						
<b>Тема 5.</b> Основи	16	2	4			10						

біологічного методу захисту рослин та переваги застосування біологічних препаратів.													
<b>Тема 6.</b> Технологія застосування та ефективність дії біологічно активних препаратів у посівах с.-г. культур.	16	2	4			9							
Разом за змістовний модуль 2		6	10			28							
<b>Разом по М 1</b>		<b>12</b>	<b>18</b>			<b>56</b>							
<b>М 2. ВПРОВАДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН В ІНТЕНСИВНИХ ТЕХНОЛОГІЯХ СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА.</b>													
<b>ЗМ 3. БАР як головна умова створення сучасних інтенсивних технологій.</b>													
<b>Тема 7.</b> Застосування біологічно активних речовин як важливий резерв реалізації біологічного потенціалу урожайності сільськогосподарських культур.	18	2	6			10							
Разом за змістовний модуль 3		2	6			10							
<b>ЗМ 4. Впровадження до застосування препаратів створених на основі БАР у різних галузях рослинництва.</b>													
<b>Тема 8.</b> Вплив БАР на рослинну клітину. Застосування біологічно активних речовин в овочівництві та лісівництві.	16	2	4			10							
Разом за змістовний модуль 4		2	4			10							
<b>Разом по М2</b>		<b>4</b>	<b>10</b>			<b>20</b>							
<b>Усього годин</b>		<b>16</b>	<b>28</b>			<b>76</b>							

## Практична робота № 1. Правила техніки безпеки при роботі в лабораторіях. Основні групи біологічно активних речовин.

**Біологічно активні речовини (БАР)** – це неорганічні і органічні сполуки, загальною особливістю яких є висока активність у невеликих кількостях. Серед біологічно активних речовин є як низькомолекулярні (наприклад, вітаміни, алкалоїди), так і високомолекулярні сполуки (наприклад, ферменти, білкові гормони). Загальною особливістю є висока активність у невеликих кількостях. Більшість БАР відносять до продуктів вторинного обміну, вважаючи первинними білки, ліпіди й вуглеводи. Вони не виконують ні будівельної, ні енергетичної функції, а забезпечують зміну швидкості обміну речовин, пристосовуючи організм до змін навколишнього середовища та здійснюють його захист від несприятливих впливів. До біологічно активних речовин відносять *ферменти, гормони, фітогормони, вітаміни, фітонциди, алкалоїди, феромони, антибіотики* та ін.

Назва	Біологічне значення	Приклади представників
Ферменти	БАР, які здатні вибірково каталізувати певну біохімічну реакцію	Оксидоредуктази, трансферази, гідролази, ліази, ізомерази, лігази
Вітаміни	БАР, які в невеликих кількостях необхідні для забезпечення життєдіяльності організмів	Жиророзчинні (А, Е, К) та водорозчинні (В, С)
Гормони	БАР, які утворюються спеціалізованими клітинами і здійснюють ендокринну регуляцію функцій організму	Соматотропін, тироксин, адреналін, інсулін, глюкагон, андрогени, естрогени
Фітогормони	БАР, які регулюють ріст і розвиток ВИЩИХ рослин і грибів, а також відіграють важливу роль у пристосуванні	Стимулятори(ауксини, гібереліни, цитокініни, брасини) та інгібітори(абсцизова кислота,

	рослин до мінливих умов середовища	етилен, жасмонова кислота).
Алкалоїди	БАР рослинного походження, які відіграють роль каталізаторів і завдяки токсичності захищають рослини від поїдання	Хінін, кофеїн, нікотин, морфін, кокаїн, атропін, ефедрин, теобромін, стрихнін, колхіцин
Фітонциди	БАР вищих рослин, які здатні вбивати або пригнічувати ріст бактерій, грибів, найпростіших, забезпечуючи природний імунітет	Аліцин цибулевих, гексенал грецького горіха, хлорогенова кислота моркви і картоплі
Феромони	БАР тварин, що виділяються в довкілля і специфічно впливають на поведінку, фізіологічні процеси і метаболізм інших особин того самого виду	Статеві феромони комах, феромони "тривоги" у риб
Антибіотики	БАР мікробного, рослинного і тваринного походження, які вибірково пригнічують ріст мікроорганізмів, а також клітин злоякісних пухлин	Стрептоміцин зі стрептоміцетів, пеніцилін зі грибів, новоіманін зі звіробою, лізоцим зі слини.

### **Запитання для самоконтролю.**

1. Які сполуки відносяться до низькомолекулярних біологічно активних речовин?
2. Основна характеристика біологічно активних речовин?
3. Які основні функції фітогормонів?
4. Які основні представники групи алкалоїдів та їх поширення у природі?
5. Що таке фітонциди? Їх роль та представники.



## **Практична робота № 2. Загальна схема виробництва біологічно активних речовин.**

Опис та характеристика кожного етапу виробництва біологічно активних речовин. Питанню виробництва біологічно активних речовин (БАР) присвячені цілі томи. Мета даної роботи – подати схему виробництва БАР у загальному вигляді. Така схема представлена на рисунку 1.

Сучасне промислове виробництво продуктів біотехнологічної промисловості є єдиним ланцюгом послідовних стадій і операцій, кількість і особливості яких залежать від виду продукції і її товарної форми. Початковим і основним елементом біотехнологічного процесу є продуцент. Потенційні можливості штаму-продуцента зумовлюють економічні показники біотехнологічної схеми в цілому. Основною стадією процесів є стадія культивування штаму-продуцента, на якій відбувається біосинтез цільового продукту – біомаси або метаболітів.

Стадія культивування продуцента може бути охарактеризована якісно і кількісно. Кількісна характеристика – об'ємна продуктивність – виражається в грамах (кілограмах) цільового продукту на 1 м<sup>3</sup> устаткування, ферментації, за 1 год і служить загальним критерієм ефективності процесу, який визначає собівартість цільового продукту.

На подальших стадіях виробництва біопрепаратів не відбувається приріст цільового продукту, а проводиться його обробка. Мета цих стадій – отримання необхідної товарної форми препарату. На цих стадіях необхідно максимально зберегти цільовий продукт.

Основна маса товарної продукції випускається промисловістю в двох формах (див. рисунок 1): сухий продукт (порошок, гранули, мілкодисперсні частинки) і рідкий продукт (концентрат із вмістом сухої речовини до 50%).

На рисунку 1 показані чотири варіанти обробки культуральної рідини при виробництві біопрепаратів. Найбільш простий – варіант, коли кінцевий продукт – культуральна рідина.

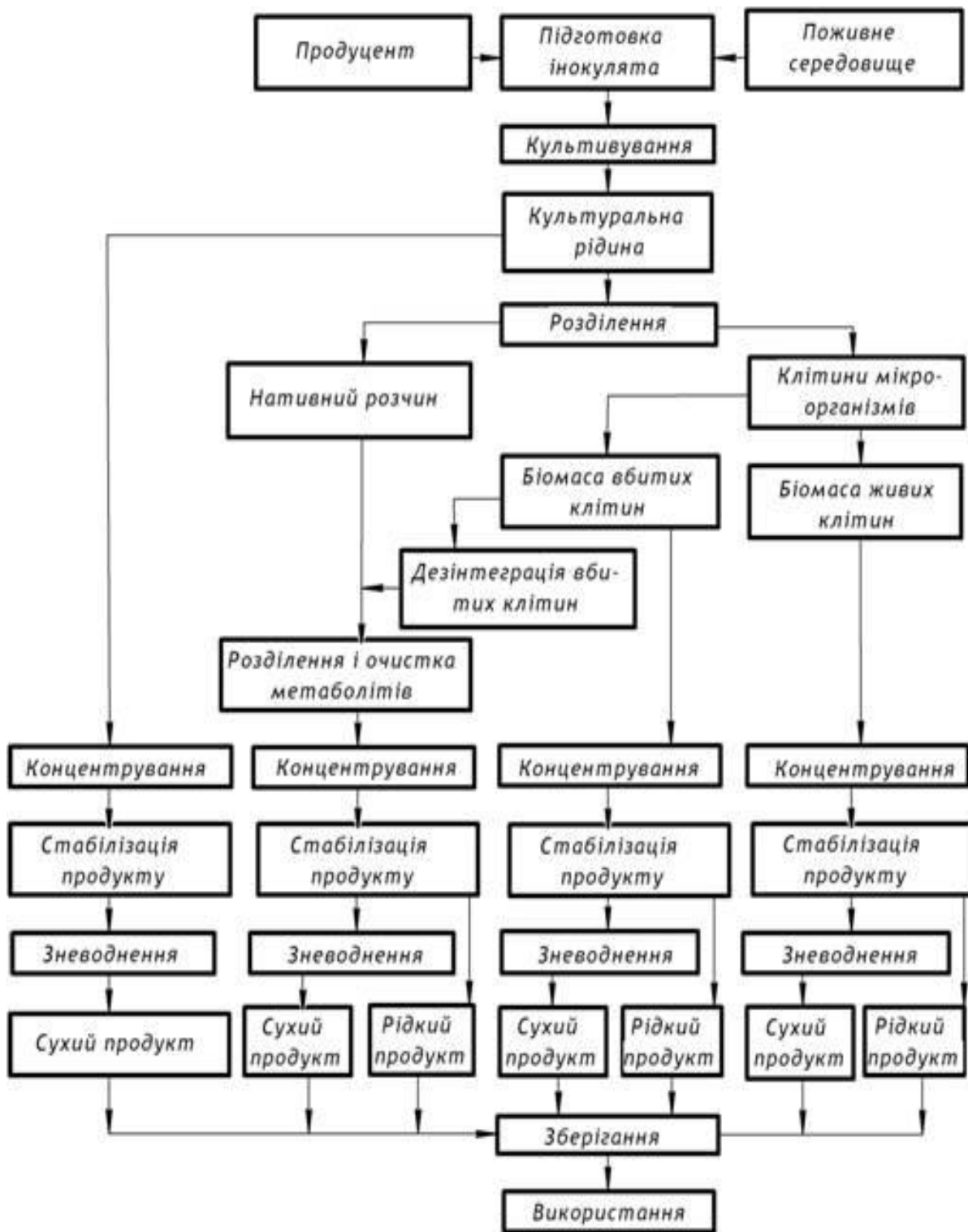


Рисунок 1.

По цій схемі одержують кормові препарати вітамінів, кормові антибіотики і ін. Схеми отримання біопрепаратів на основі продуктів, що містяться в твердій фазі культуральної рідини, складніші. По цих схемах одержують біопрепарати, що мають життєздатні або убиті клітини мікроорганізмів. І четвертий, останній, шлях отримання біопрепаратів – на основі очищених продуктів метаболізму, виділених з фільтрату культуральної рідини або із зруйнованої маси (дезінтеграта) кліток продуцента. Ця схема

охоплює виробництво продуктів біотехнологічного синтезу з різною ступенем чистоти.

Як бачимо, процес виробництва БАР багатостадійний, складний та тривалий. Однією із кінцевих стадій виробництва БАР є їх концентрування з метою виділення кінцевого продукту.

Найбільш широко вживаними методами виділення і хімічного очищення є екстракційні, іонообмінні методи, мембранні процеси і осадження. Відмітні особливості всіх методів – велика кількість технологічних стадій (неодноразове відділення – фільтрація осадів, дво- і триступінчаті екстрагування, кристалізація, концентрація розчинів вакуум випаровуванням, застосування різних методів сушки і т. д.), різноманітність і складність використовуваного устаткування, його різномасштабність (на перших стадіях об'єми – до сотень кубічних метрів, на останніх – іноді декілька літрів). Так, наприклад, застосовують вакуум-барабанні фільтри, фільтрпреси, друк- і нутч-фільтри, сепаратори і центрифуги різної продуктивності, екстрактори різних конструкцій, іонообмінні колони, плівкові випарники різних систем, сушильні установки, що працюють за принципом розпилювання, псевдозрідження, сублімації льоду, і інші види устаткування.

Необхідно підкреслити, що в самій схемі виробництва продуктів біотехнологічного синтезу закладена можливість комплексної переробки культуральної рідини, тобто створення безвідходних технологій. При проектуванні нових виробництв цю можливість необхідно реалізувати.

#### **Запитання для самоконтролю:**

- 1.** Які основні стадії виробництва біологічно активних речовин?
- 2.** Які кінцеві стадії виробництва БАР?
- 3.** Які відмінні особливості всіх методів виділення біологічно активних речовин?
- 4.** Охарактеризувати стадії культивування штаму-продуцента.

### **Практична робота №3. Рослинні біологічно активні речовини, способи їх виділення. Алкалоїди.**

*Алкалоїдами* називаються природні азотовмісні сполуки основного характеру, які утворюються в рослинних організмах. З природних біологічно активних речовин алкалоїди є основною групою, з якої сучасна медицина добуває найбільшу кількість високоефективних лікарських засобів, у тому числі сумарні максимально очищені та індивідуальні алкалоїди в різних лікарських формах (розчини в ампулах, таблетки, драже, супозиторії та ін.).

Оскільки алкалоїди є основами, вони утворюють солі в рослинах з органічними кислотами, а при переведенні в лікарську речовину — з тими кислотами, які забезпечують якісну кристалізацію і легку розчинність у воді. Найчастіше такими кислотами є: із мінеральних — хлороводнева, сульфатна, нітратна, а з органічних — винна, саліцилова та ін.

#### **Виділення та очищення алкалоїдів із рослинної сировини**

Вміст алкалоїдів у рослинах зазвичай незначний. Здебільшого вони знаходяться в рослинах у вигляді солей різних кислот, тому спочатку їх необхідно звільнити шляхом змочування здрібненої рослинної сировини розчином лугу.

Промислові способи виділення алкалоїдів можна розділити на дві групи: *екстракція у вигляді солей* і *екстракція у вигляді вільних основ*. У першому випадку рослинну сировину обробляють відповідним екстрагентом, до якого додають невелику кількість кислоти (оцтової, хлороводневої, винної, лимонної та ін.). Екстракцію проводять за принципом протитечії. Цим способом одержують більш концентровані витяжки алкалоїдів і з меншими витратами екстрагента. На виробництві встановлюють, як правило, екстракційні батареї, що складаються з 5—10 перколяторів, або протитечійні апарати.

Солі алкалоїдів розчинні у воді та в спиртах (метиловому та етиловому) і нерозчинні в ефірі, хлороформі, дихлоретані та інших органічних розчинниках. Тому при екстракції алкалоїдів у вигляді солей як розчинник зазвичай застосовують спирт або воду. Однак основною вадою способу екстракції алкалоїдів у вигляді солей, є те, що спирт і особливо вода витягають із рослин разом з алкалоїдами велику кількість супутніх речовин (білків, смол, дубильних речовин, слизу та інших), які затрудняють обробку таких витяжок.

Екстракція алкалоїдів у вигляді основ вимагає в технології додаткових операцій. Застосовуючи цей спосіб, необхідно попередньо виділити вільні алкалоїди, що знаходяться в рослинній сировині у вигляді солей; це досягається обробкою сировини розчином лугу (амоніаком, натрію гідрокарбонатом, натрію

гідроксидом), і лише потім його екстрагувати. Через те що вільні алкалоїди розчинні не тільки у воді і спирті, але і у великому числі органічних розчинників, вибір екстрагента в цьому разі набагато ширший. Найчастіше застосовують бензен, дихлоретан, трихлоретилен, рідше — ефір, хлороформ, тетрахлометан, петролейний етер та ін. Сама екстракція проводиться протитечійним способом, як і при екстракції в кислому середовищі.

Вибір придатного лугу є дуже важливим моментом, тому що, з одного боку, багато алкалоїдів дуже чутливі до дії сильних лугів і можуть при цьому піддаватися небажаним змінам, а з іншого боку — деякі алкалоїди є настільки сильною основою, що для її виділення із солей недостатньо слабких основ, наприклад, амоніаку.

Кислі, водні або спиртові витяжки підлужують і алкалоїди відокремлюють (якщо вони важкорозчинні у воді і випадають в осад) або ж витягають відповідним розчинником (ефіром, хлороформом, бенzenом, аміловим спиртом або сумішшю хлороформу і фенолу та іншими), що не змішуються з водою. Звичайно одної такої обробки недостатньо, тому що разом з алкалоїдами в органічний розчинник переходить багато супутніх речовин (хлорофіл, воски, жири, терпени, ефіри та ін.).

Для попереднього очищення витяжок його знову обробляють розведеною (1—5%-вою) хлороводневою або сульфатною кислотами, в які алкалоїди переходять повністю, тоді як більша частина домішок залишається в органічному розчиннику. Очищений кислий розчин знову підлужують і витягають із нього алкалоїди за допомогою розчинника, який не змішується з водою. Отриманий розчин алкалоїдної основи є найчистішим і після відгону розчинника дає так звану «суму алкалоїдів», яка і піддається подальшій обробці.

При використанні спиртових розчинів, що мають кислу реакцію, необхідно спочатку видалити спирт при температурі 30—40 °Сі розрідженні не менше 60кПа. Кубовий залишок у випарнику обробляють водою (або розведеною кислотою), частина смолистих речовин залишається нерозчинною, що, як правило, відокремлюється шляхом фільтрації. Ці смоли часто адсорбують значну кількість алкалоїдів, тому вони обробляються декілька разів гарячою водою (або розведеною кислотою) до повного виділення з них алкалоїдів. Кислий водний розчин, отриманий після видалення смол, обробляють етером, хлороформом, петролейним етером до повного звільнення його від інших супутніх речовин.

Останнім часом для виділення алкалоїдів із водних і кислих витяжок застосовують адсорбційні методи, найчастіше пропусканням розчину через колонки, наповнені іонообмінними смолами. Десорбцію алкалоїдів проводять

обробкою сорбенту спочатку водним розчином лугу, а потім органічним розчинником. Після відгону органічного розчинника одержують «суму алкалоїдів», яку піддають подальшому очищенню для одержання індивідуальної речовини. При десорбції розчинником, що не змішується з водою, алкалоїди витягають із нього кислотами.

Лужні витяжки вільних алкалоїдів, отримані лужною екстракцією рослинної сировини, зазвичай містять менше супутніх речовин, ніж водні і спиртові витяжки. Для одержання очищених алкалоїдів їх спочатку оброблюють розведеною хлороводновою або сульфатною кислотами (1—5 %-вими), в яку переходять усі алкалоїди, потім концентрують. Кислий розчин піддають звичайному очищенню, як зазначено вище, підлужують і алкалоїдну суміш у вигляді осаду відокремлюють або витягають органічними розчинниками.

Для розділення суми алкалоїдів і виділення з неї індивідуальних алкалоїдів у промислових умовах використовують сорбційні методи, побудовані на різниці їхньої адсорбційної здатності. Як адсорбент зазвичай застосовують алюмінію оксид, силікагель та інші, а як елюент — петролейний етер, бензен, спирт, хлороформ, гексан, етанол та ін.

Технологічний процес складається із стадій:

- водної екстракції алкалоїдів із рослинної сировини;
- сорбції суми алкалоїдів на катіоніті;
- десорбції алкалоїдів у вигляді очищеної суми з катіоніту розчином амоніаку у водно-спиртових сумішах (суміші етилового, метилового, ізопропилового спиртів, що містять 10—20 % води);
- виділення алкалоїдів із спиртово-амоніачного елюату із застосуванням звичайних хімічних методів і регенерації катіоніту. За цією схемою виділяють у промисловому масштабі морфін із коробочок маку масляного, морфін із маточних розчинів, цитизин із трави термопсису, скополамін із насіння коробочок дурману, виробляють морфін з опію та ін.

### **Запитання для самоконтролю:**

1. Що таке алкалоїди? Їх специфіка дії?
2. Місце локалізації алкалоїдів у рослинах?
3. Які промислові способи виділення алкалоїдів?
4. Стадії технологічного процесу виділення алкалоїдів.

## **Практична робота № 4. Стадії очищення біологічно активних речовин. Методи осадження БАР.**

На стадії очищення витяжки культуральні рідини піддають послідовній обробці, метою якої є виділення комплексу діючих речовин у нативному стані або індивідуальних БАР, вільних від супутніх речовин. Прийоми та способи очищення БАР дуже різноманітні й індивідуальні. Необхідність застосування конкретного методу залежить від початкових властивостей витяжки або культуральної рідини (в'язкості, концентрації продукту, наявності домішок і небажаних нерозчинних речовин), а також від необхідного ступеня чистоти і кінцевої форми продукту (кристалічна речовина, його концентрований розчин, висушений порошок і т. д.). Неочищений продукт можна виділити, наприклад, упарюванням витяжки або культуральної рідини після екстрагування.

Послідовність стадій очищення при одержанні високоочищених БАР має такий порядок:

1. *Відділення нерозчинних речовин.* Для цього, як правило, застосовують фільтрування, центрифугування, відстоювання, седиментацію і декантацію.
2. *Очистка БАР.* На стадії очищення БАР зазвичай відбувається відділення домішок, а також подальше концентрування продукту. Для цього найчастіше застосовують фракційне осадження, екстракцію в системах рідина — рідина, розділення за допомогою мембран, різні сорбційно-хроматографічні методи.
3. *Остаточне очищення БАР.* У межах такої технології зазвичай застосовують центрифугування, кристалізацію, висушування розпиленням, ліофілізацію (виморожування) або відгін органічного розчинника.

### **Методи осадження БАР розчинників.**

Осадження білків, камедей, слизів, пектинів з водних розчинів ґрунтується на зміні їх розчинності при додаванні значних кількостей певних речовин. Так, при додаванні у витяжку розчину електроліту утворені іони електроліту гідратуються, зневоднюючи молекули біополімеру. При цьому зникає захисний гідратний шар молекул, спостерігається злипання частинок і осадження біополімеру. Висолювання дуже широко застосовується для очищення білкових гормонів (підшлункової, щитовидної і парашитовидних залоз та гіпофіза), стероїдних гормонів, ферментів слизової оболонки шлунка і підшлункової залози, продуктів біосинтезу, простагландинів (ПГЕ<sup>^</sup> із плазми крові людини).

Необхідно враховувати і той факт, що різні солі мають різні висолювальні властивості. Ще в 1889 році Гофмейстер відзначив, що найбільш ефективно білки осаджуються в присутності солей із багатозарядними аніонами і катіонами. Ряди іонів Гофмейстера (або ліотропні ряди), в яких іони

розташовані приблизно за порядком зменшення висолювальної спроможності, виглядають таким чином:

*Аніони:* Катіони: цитрат, тартрат,  $F^-$ ,  $HPO_4^{2-}$ ,  $Th^{4+}$ ,  $Al^{3+}$ ,  $H^+$ ,  $Ba^{2+}$ ,  $Sr^{2+}$ ,  $CH_3COO^-$ ,  $BrO_3^-$ ,  $Cl^-$ ,  $ClO_3^-$ ,  $Br^-$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Cl^+$ ,  $Pb^+$ ,  $NH_4^+$ ,  $K^+$ ,  $NO^-$ ,  $ClO^-$ ,  $CNS^-$ ,  $Na^+$ ,  $Li^+$ .

Серед реагентів, здатних специфічно зв'язувати та осаджувати, наприклад ферменти, значну роль відіграють розчинні синтетичні або природні полімери і поліелектроліти. При одержанні ферментів, зокрема гідролазу, із культуральних рідин рекомендовано використовувати танін і білкові добавки: желатин, казеїн, сироватку, пектин або желатозу з додаванням таніну.

Осадження біополімерів здійснюють і органічними розчинниками (спиртом, ацетоном), яке проводиться при охолодженні — це один з поширених способів концентрування розчинів, що містять білки, слизи, пектини.

Він має низку переваг перед висолюванням, зокрема можливість регенерації, що позитивно позначається на економічних показниках технологічного процесу. Однак органічні розчинники не мають здатності осаджувати білки та інші біополімери.

При виборі конкретного методу осадження необхідно враховувати не тільки ступінь збагачення і витрати на осадження, але і необхідний ступінь чистоти біополімеру.

Відомо, що осадження білка залежить від низки чинників, що впливають на їх розчинність, в основному від величини рН концентрації розчину. Найменша розчинність спостерігається при рН, рівному р/величині, специфічній для кожного індивідуального білка. Через те що при р/результуючий заряд молекули білка дорівнює нулю, а при інших значеннях рН молекули білка мають той або інший заряд, то сили електростатичного відштовхування між молекулами розчиненої речовини мінімальні при рН. Такий механізм припускає можливість розділення білків з різними ізоелектричними точками шляхом фракційного осадження; при даному рН будуть осаджуватися білки, яких найбільш близький цьому рН (якщо інші характеристики білків, наприклад молекулярна маса, близькі). Зміною рН складну суміш білків розділяють на фракції, які містять різні білки.

У той же час багато білків при занадто високих або занадто низьких значеннях рН можуть денатуруватися. Зцієї причини найчастіше застосовують інший метод осадження — висолювання.

### **Запитання для самоконтролю:**

1. Від чого залежить метод та стадії очищення БАР?
2. Яка послідовність стадій очищення біологічно активних речовин?



3. В якому році і яким вченим відзначено, що найбільш ефективно білки осаджуються в присутності солей?

4. Які чинники впливають на осадження білка?

### **Практична робота № 5. Розділення БАР за допомогою мембран. Діаліз і електродіаліз, ультрафільтрація.**

Нині в хіміко-фармацевтичній і мікробіологічній промисловості все в більшій мірі здобувають складні термічно і хімічно лабільні органічні сполуки. Потрібні для цього «м'які» умови виробництва, яким значною мірою відповідають мембранні процеси. Запровадження мембранних процесів дозволяє інтенсифікувати технологію концентрування біологічно активних речовин, скорочуючи при цьому втрати їх активності. Мембранні методи розділення сумішей, які містять біополімери, значно підвищують якість продукції.

Базою для розробки сучасних економічних мембранних процесів стало одержання і подальше удосконалення високоселективних ацетатцелюлозних і синтетичних мембран. Так, за останні 20 років, що минули з часу одержання мембран з ацетату целюлози, їхню проникність удалося збільшити приблизно в 100разів. У країнах СНД набули поширення ацетатцелюлозні мембрани «Владипор», «Міфіл» і синтетичні напівпроникні мембрани з ко-полімеру вінілпіролідону з метилметакрилатом.

За кордоном широко застосовують мембрани фірм «Абкор», «Міліпор» (США); «Шляйхер Шуель», «Сарторіус» (Німеччина); «Амікон» (Голландія); «Нуклеопор» (Великобританія); комплексні системи ДДС-РО (Данія) для ультрафільтрації і концентрування (зворотний осмос), виготовлені на основі нейлону, полівінілхлориду, тефлону, ацетату нітроцелюлози. Вони мають високу пористість (84 %), хімічно стійкі і біологічно нейтральні.

Нині розробляються установки періодичної і безперервної дії з використанням апаратів плоскорамного, рулонного, трубчастого типів, а також із застосуванням порожнистих волокон. Також розширюється промислове виробництво мембранних фільтрів із можливістю виділення досить малих частинок: **10...0,2** мкм — при мікрофільтрації; 0,02...0,001 мкм — при ультрафільтрації; до 0,0001 мкм — при гіперфільтрації (зворотний осмос).

Усі мембранні фільтри мають працювати в умовах широкого інтервалу температур (0—60 °С), рН середовища (3,0—11,0). При проведенні мембранної фільтрації слід враховувати градієнт електричного потенціалу, концентрацію або тиск.

Серед рідкофазних мембранних процесів розрізняють діаліз, електродіаліз, ультрафільтрацію, зворотний осмос.

#### *Діаліз і електродіаліз.*

Явища діалізу і електродіалізу знаходять застосування при очищенні рослинних витяжок. Діаліз базується на властивостях молекул біополімерів, що мають великі розміри, не проходить через напівпроникні мембрани, у той час як речовини з меншими розмірами молекул проходять через них досить вільно. Для діалізу використовують плівки желатину, целофану, колодію, нітроцелюлози. Процес діалізу проходить зазвичай досить повільно, він прискорюється при підвищенні температури, збільшенні площі діалізу і прикладанні електричного струму. В останньому випадку спостерігається явище електродіалізу, до якого схильні здебільшого речовини, що розпадаються на іони.

Найпростіша установка для електродіалізу складається з ванни, розділеної двома напівпроникними перегородками на три відсіки. У крайній відсік опущені катод і анод, у середній — наливається витяжка, що піддається діалізу. Катіони під дією електричного струму рухаються через напівпроникні перегородки до анода, аніони — до катода. У середньому відсіку залишаються речовини, що не проходять через напівпроникні перегородки. У процесі роботи періодично або безперервно проводять відведення витяжки, розчинів продіалізованої речовини.

Електродіаліз із іонообмінними мембранами до сих пір не знайшов широкого застосування. Є лише дослідження, які доводять можливість очищення технічних напівпродуктів, що містять алкалоїди гіосціамін і сальсолін від високомолекулярних неіонізованих речовин методом електродіалізу з гетерогенними мембранами МК-40 і гомогенними мембранами МК-ІСС.

Дослідження також показали, що перетворення катіонітових мембран, яке відбувається в процесі електродіалізу, у форму органічного іона супроводжується стисненням іонообмінних частинок гетерогенних мембран, порушенням їх зв'язку з ненабухлою основою мембран і рівномірною стисненням всієї гомогенної мембрани. У першому випадку це призводить до мікродеструкції мембрани і до значного збільшення переносу розчинника разом із недисоційованими сполуками, що обмежує можливості очищення. При застосуванні гомогенних мембран мікродеструкції при переході у форму органічного іона не відбуваються, тому гомогенні мембрани більш перспективні для застосування в процесі розділення природних полярних і неполярних органічних речовин.

#### *Ультрафільтрація.*

Метод ультрафільтрації полягає в розділенні високомолекулярних і низькомолекулярних сполук на селективних мембранах, здатних пропускати низькомолекулярні сполуки під дією тиску 98—490 кПа. Ультрафільтрація в 50—20 разів ефективніша за гель-фільтрацію та у 1000 разів ефективніша від очищення з використанням фракціонування етанолом. Застосування ультрафільтрації має ще низку переваг: виключається денатурація білка, тому що процес іде без фазових перетворень при будь-якій температурі; можливі одночасне концентрування і очищення від мінеральних і низькомолекулярних органічних речовин; незначні витрати енергії. Ультрафільтраційні установки відрізняються простою конструкцією та експлуатацією.

Водою ультрафільтрації є емпіричний підхід до підбору мембран на певній стадії виділення БАР. Теоретично прогнозувати ультрафільтраційні властивості розчинів складного складу неможливо, тому що мембрани, як правило, стандартизують кислими речовинами з певною молекулярною масою.

У нашій країні випускають ультрафільтраційні ацетатцелюлозні мембрани: УАМ 50м, УАМ 100м, УАМ 150м, УАМ 200м, УАМ 300м, УАМ 500м.

Технологія ультрафільтрації така: суспензію під тиском пропускають через напівпроникну мембрану з великою кількістю пор дрібного діаметра (0,02—0,001 мкм), у результаті чого колоїдні частинки затримуються мембраною, а вода і молекули, що містяться в ній, проходять крізь стінки ниток і накопичуються в корпусі патрона. Навіть при низькому тискові забезпечується інтенсивний потік фільтрату. Активна частина мембрани — це поверхня, по якій проходить суспензія. Розділення фракцій відбувається саме на цій тонкій поверхні. Мембрана неоднорідна по товщині, унаслідок чого опір протіканню рідини по всій її поверхні мінімальний.

Основні виробники ультрафільтраційних установок — фірми «Альфа-Лаваль» (Швеція); «Міліпор» (США), ДДС-РО (Данія); «Амікон» (Нідерланди), АІ-ОУВ, АІ-ОУП, УЛС-3, УКТ-40, УКФ-80 (Росія).

### **Запитання для самоконтролю:**

1. На яких принципах базується процес діалізу?
2. В чому полягає метод ультрафільтрації?
3. Чим супроводжується процес перетворення катіонових мембран у процесі електродіалізу?
4. Основні етапи технології ультрафільтрації?

## **Практична робота № 6. Розділення БАР за допомогою мембран. Зворотний осмос, сорбція і сорбційні процеси.**

*Зворотний осмос.* (гіперфільтрація) — перехід розчинника (води) із розчину через напівпроникну мембрану під дією зовнішнього тиску. Надлишковий робочий тиск розчину при цьому набагато більший від осмотичного. Рушійною силою зворотного осмосу є різниця тисків.

Для розділення речовин застосовують мембрани двох типів:

1. Пористі з розміром пор  $10^{-4}$ — $10^{-3}$  мкм (1—10А). Селективна проникність базується на адсорбції молекул води поверхнею мембрани і її порами. У нашій країні випускають ацетатцелюлозні мембрани: УАМ-50м, УАМ-500м.
2. Непористі дифузійні мембрани утворюють водневі зв'язки з молекулами води на поверхні контакту. Під дією надлишкового тиску ці зв'язки руйнуються, молекули води дифундують у протилежну сторону мембрани, а на утворені вільні місця проникають наступні. Таким чином, вода неначе розчиняється на поверхні і дифундує усередину шару мембрани. Майже всі БАР, крім газів, не можуть проникати через таку мембрану. У нашій країні і країнах СНД випускають гіперфільтраційні ацетатцелюлозні мембрани МГА-80, МГА-90, МГА-100. Цифра в марці означає відсоток селективності  $S$ :

$$S = (C_1 - C_2)/C_1 * 100\%$$

де  $C_x$  і  $C_2$  — концентрація речовин у вихідному розчині і фільтраті, мг/мл. На цьому принципі працюють промислові вітчизняні установки типу «Роса», УГ-1, УГ-10, продуктивністю відповідно від 0,1 до 1 і від 1 до 10 м<sup>3</sup>/доба, і закордонні фірми «Абкор» (США), ДДС-РО (Данія). Зазвичай установки зворотного осмосу призначені для однорідних високов'язких рідин; випускають установки двох типів: трубчасті і рулонні, застосовуючи не менше п'ятих марок фільтраційного матеріалу, який має високу стійкість до рН (1—13), селективність і робочу температуру до 80 °С.

### *Сорбція.*

Методи очищення БАР сорбцією в наш час набули широкого застосування в хіміко-фармацевтичній і мікробіологічній промисловості.

*Сорбцією* називають процес поглинання газів, парів, розчинених речовин твердими і рідкими сорбентами. Розрізняють декілька видів сорбції.

*Адсорбція* — поглинання речовини на поверхні сорбенту. Поверхня сорбенту, як правило, дуже велика, тому що на ній є величезна кількість пор. Так, поверхня 1г активованого вугілля має площу, яка дорівнює 600—1000м<sup>2</sup>.

Процес адсорбції має селективність і дозволяє адсорбувати певні БАР із розчину.

*Абсорбція* — поглинання речовини всім об'ємом твердої або рідкої фази. Абсорбцію використовують, наприклад, для отримання ефірних масел. При одержанні ефірних масел анфлеражем квітки поміщають у закриту посудину над жиром, який усією воєю масою абсорбує ефірне масло.

*Хемосорбція* — поглинання речовин з утворенням хімічних сполук. До хемосорбції належать іонний обмін, афінна і гідрофобна хроматографія. У виробництві БАР рослинного і тваринного походження і на основі біосинтезу, як правило, використовують адсорбцію.

#### *Сорбційний процес.*

Сорбційний процес виділення речовин із розчину суміші речовин — це поєднання процесів сорбції і десорбції. Процес десорбції розділений на два етапи: власне десорбцію, тобто одержання елюату, який містить цільовий продукт, і регенерацію, тобто видалення із сорбенту всіх просорбованих речовин, які дозволяють повернути сорбент знову на стадію адсорбції.

Раціональний вибір адсорбентів, розчинників і умов їх застосування для одержання речовин із розчинів має базуватися на таких положеннях.

1. Адсорбент і умови адсорбції мають бути обрані так, щоб вони забезпечували переважну і максимальну сорбцію екстрагованої речовини і її мінімальну залишкову концентрацію в розчині в умовах рівноваги.

2. Десорбувальний розчинник і умови десорбції повинні бути обрані так, щоб в умовах рівноваги елюат з відносно високою концентрацією речовини знаходився б у рівновазі з адсорбентом з малим вмістом речовини, тобто щоб адсорбція з десорбувального розчинника була б мінімальною.

Слід зазначити, що обидві ці умови невіддільні одна від одної і, отже, обраний адсорбент має забезпечувати їх виконання.

У разі сорбції на молекулярних сорбентах здійснення перших двох умов ведення адсорбційних процесів при виділенні речовин із розчинів зводиться до добору адсорбенту та умов його використання, які забезпечили б значну різницю в адсорбційних потенціалах з водного розчину і десорбувального розчинника.

При доборі таких умов можна виходити з теорії Поляни. Відповідно до Поляни адсорбований об'єм сорбенту завжди повністю заповнений речовиною, що адсорбується, і розчинником. При адсорбції розчиненої речовини вона витісняє з адсорбційного об'єму частину розчинника. Тому чим більший адсорбційний потенціал розчинника, тим менша величина сорбції розчиненої речовини.

При виборі молекулярного сорбенту для виділення речовин із розчинів важливу роль відіграє так зване правило «зрівнювання» полярностей, установлене Ребіндером. Відповідно до цього правила адсорбція неполярних речовин на неполярних поверхнях буде успішно відбуватися з полярних розчинників, адсорбція полярних речовин на полярних адсорбентах — із неполярних розчинників.

Як адсорбент у технології ліків застосовують пористі тверді речовини з великою питомою поверхнею, з яких найбільш поширені: алюмінію оксид, силікагель (гель кислоти силікатної), вугілля активоване, кізельгур, поліаміди, поліакриламід, сефадекси, целюлози та ін.

Адсорбцію проводять у спеціальних апаратах — адсорберах, найпростішим із них є вертикальний циліндричний апарат періодичної дії, заповнений адсорбентом. Спочатку через адсорбент пропускають розчин і насичують його поглинальною речовиною, потім фільтрують десорбент-розчинник або суміш розчинників, який витісняє поглинену речовину.

Для проведення безперервної адсорбції використовують установки з декількох адсорберів періодичної дії, в яких поперемінно відбуваються адсорбція і десорбція.

#### **Запитання для самоконтролю:**

1. Що таке процес зворотний осмос?
2. Які типи мембран застосовуються для розділення речовин?
3. Який процес називається сорбцією?
4. Основні принципи положення вибору адсорбентів?

#### **Практична робота № 7. Промислове виробництво БАР із культури клітин рослин. Підготовка середовища для культивування продуцента посівного матеріалу.**

В основі промислового виробництва БАР із культури клітин рослин лежить ряд послідовних стадій і операцій: одержання високопродуктивних продуцентів, розробка найбільш сприятливих умов культивування продуцента БАР із максимальним біосинтезом цієї речовини, добір і впровадження в практику відповідних методів виділення та очищення БАР, створення готових препаратів і контроль якості. Робота на кожному з цих етапів має проводитися кваліфікованими фахівцями (технологами, біотехнологами, генетиками).

*Підготовка середовища для культивування продуцента посівного матеріалу(перша стадія).*

Підготовка середовища. Для кожного продуцента БАР, для кожного наново утвореного калусу і суспензійної культури рослин розробляється своє оптимальне середовище, яке повинне задовольняти основним вимогам: а) забезпечувати добрий ріст біомаси і максимально утворювати БАР (алкалоїди, глікозиди, полісахариди, терпеноїди та ін.); б) містити доступні за вартістю компоненти; в) забезпечувати застосування найбільш економічних і ефективних способів виділення та очищення БАР.

Середовище для культивування'. Компоненти середовища для вирощування калусних і суспензійних культур можна розділити на шість груп, що звичайно відображає порядок готування концентрованих вихідних розчинів:

1. основні поживні речовини (макроелементи);
2. мікроелементи;
3. джерела заліза;
4. органічні добавки (вітаміни);
5. джерела вуглецю;
6. регулятори росту рослин.

Хімічний склад деяких живильних середовищ наведено в табл. 1—2

Середовища Мурасіге—Скуга (МС) і Шенка—Хільдебранд-та (ШХ) належать до найбільш використовуваних у роботі з культурами клітин рослин і виявилися ефективними для росту різних одно- і дводольних рослин. Їх вважають середовищами з високим вмістом солей (у порівнянні з низькосольовим середовищем Уай-та). Середовище ШХ від інших середовищ відрізняється дуже високим, десятикратним вмістом мезоінозиту. Середовища МС і ШХ містять залізо в хелатній формі в комплексі з етилендіамідтетраацетатом (ЕДТА). Це забезпечує його доступність при рН до 8,0 протягом усього періоду росту культури, тоді як за відсутності характеристичного агента нестача може виникнути дуже швидко.

У реактор із мішалкою за допомогою вакууму вносять по черзі приготовлені розчини, дотримуючись такої черговості:

- розчин макросолей;
- агаризований розчин;

Таблиця 1. Середовище Мурасіге—Скуга

Компоненти	Молярність середовищі	у	Концентрація вихідного розчину, мг/мл
Основні неорганічні поживні речовини			

$\text{NH}_4\text{NO}_3$	$2,06 \cdot 10^2$	33 000
$\text{KNO}_3$	$1,88 \cdot 10^2$	38 000
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	$3,00 \cdot 10^3$	8800
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	$1,50 \cdot 10^3$	7400
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	$1,25 \cdot 10^a$	3400
Джерела мікроелементів		
KI	$5,00 \cdot 10^{-6}$	166
$\text{H}_3\text{BO}_3$	$1,00 \cdot 10^{**}$	1240
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	$9,99 \cdot 10^{**5}$	4460
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	$2,99 \cdot 10^{**5}$	1720
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	$1,00 \cdot 10^{-6}$	50
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	$1,00 \cdot 10^{-7}$	5
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	$1,00 \cdot 10^{-7}$	5
Джерела заліза		
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	$1,00 \cdot 10^{-4}$	5560
$\text{Ca}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	$1,00 \cdot 10^{-*}$	7460
Органічні речовини		
Мезоінозит	$4,90 \cdot 10^{-4}$	20 000
Нікотинова кислота	$4,66 \cdot 10^{-6}$	100
Піридоксин • HCl	$2,40 \cdot 10^{-4}$	100
Тіамін • HCl	$3,00 \cdot 10^{-7}$	100
Гліцин	$3,00 \cdot 10^{-8}$	400
Джерела вуглецю		
Сахароза	$8,80 \cdot 10^{**2}$	додавати у вигляді порошку (30 г/л)

- розчин феруму хелату;
- розчин мікроелементів;
- розчин кальцію нітрату;
- розчин цукру.

Суміш ретельно перемішують протягом 15хв, потім 1—2хв проводять вертикальне перемішування барботуванням при включеній мішалці.



Обов'язково відбирають контрольні проби для визначення рН середовища (рН має бути в межах 5,6—6,2, температура розчину  $152 \pm 2,5$  °C).

Таблиця 2. Модифіковане середовище Шенка—Хільдебрандта (рН= 6,7)

Компоненти	Молярність у середовищі	Концентрація вихідного розчину, мг/мл
Основні неорганічні речовини		
$\text{KNO}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	$2,5 \cdot 10^{-2}$	101 000
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	$1,5 \cdot 10^{-3}$	24 640
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	$2,5 \cdot 10^{-3}$	14 680
Мікроелементи		
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	$5,9 \cdot 10^{-5}$	1320
$\text{H}_3\text{BO}_3$	$1,3 \cdot 10^{-4}$	500
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	$3,5 \cdot 10^{-6}$	100
KI	$6,0 \cdot 10^{-6}$	100
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	$8,0 \cdot 10^{-7}$	20
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	$4,1 \cdot 10^{-7}$	10
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	$4,2 \cdot 10^{-7}$	10
Джерела заліза		
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	$5,4 \cdot 10^{-5}$	1500
$\text{Na}_2\text{EDTA}$	$5,4 \cdot 10^{-5}$	2000
Органічні речовини		
Тіамін $\cdot \text{HCl}$	$1,5 \cdot 10^{-5}$	500
Нікотинова кислота	$4,1 \cdot 10^{-5}$	500
Піридоксин $\cdot \text{HCl}$	$2,4 \cdot 10^{-6}$	50
Мезоінозит	$5,6 \cdot 10^{-3}$	—
Джерело вуглецю		
Сахароза	$8,8 \cdot 10^{-2}$	—

Стерилізація живильних середовищ у промислових умовах здійснюється двома основними методами: періодичним і безперервним.

Періодичний метод стерилізації. Застосовують під час використання невеликих об'ємів середовища. Він полягає в тому, що середовище, нагріте до певної температури (120—125 °С) безпосередньо у ферментаторах або в спеціальних парових стерилізаторах ГПСД-1700, витримується при цій температурі протягом 30—60хв (залежно від об'єму середовища або від його складу), після чого охолоджується до 27—30 °С.

Таблиця 3. Склад інших середовищ, широко використовуваних для культивування клітин рослин

Компоненти	Концентрація в середовищі для культивування, мг/мл				
	Середовище Уайта	Середовище ШХ	Середовище 135	Середовище Хеллера	Середовище Лисмайєра—Скута
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	142	—	—	—	—
KN <sub>3</sub>	81	2500	3000	—	1900
NaNO <sub>3</sub>	—	—	—	—	1650
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	—	—	—	—	—
NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	—	300	—	—	—
MgSO <sub>4</sub> • 7H <sub>2</sub> O	74	400	500	250	370
CaCl <sub>2</sub> • 2H <sub>2</sub> O	—	200	150	75	440
KCl	65	—	—	750	—
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	12	—	—	—	170
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	—	—	150	125	—
MnSO <sub>4</sub> • H <sub>2</sub> O	—	10	10	—	—
MnSO <sub>4</sub> • 4H <sub>2</sub> O	—	—	—	0,1	22,3
KI	—	1	0,75	0,01	0,83
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	—	5	3	1	6,2
ZnSO <sub>4</sub> • 7H <sub>2</sub> O	—	1	2	1	8,6
CuSO <sub>4</sub>	—	0,2	0,025	—	—
CuSO <sub>4</sub> • 5H <sub>2</sub> O	—	—	—	0,03	0,025
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> • 2H <sub>2</sub> O	—	0,1	0,25	—	0,25

CoCl <sub>2</sub> • 6H <sub>2</sub> O	—	—	—	—	0,025
АїСід	—	—	—	0,03	—
FeCl <sub>2</sub> • 6H <sub>2</sub> O	—	—	—	1	—
Fe <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	2,46	—	—	—	—
Na <sub>2</sub> EАТА	—	20	—	—	37,26
Мезоінозит	—	1000	100	—	100
Тіамін • НС1	—	5	10	—	0,4
Нікотинова кислота	—	5	1	—	—
Піродоксин • НС1	—	0,5	1	—	—
Дріжджовий екстракт	100	—	—	—	—
Сахароза	20 000	30 000	20 000	—	30 000
pH		5,9	5,5		5,8

Безперервний метод стерилізації доцільно застосовувати при використанні великих об'ємів середовища. Приготовлене середовище зі спеціальної посудини за допомогою насоса подається в стерилізаційну колону, через яку пропускається гостра пара (тиск пари близько 5атм). Пара подається зверху по внутрішній трубці, яка має щілиноподібні прорізи, завдяки чому пара надходить у середовище і швидко його нагріває. Середовище в колону подається знизу і рухається по спіралі навколо внутрішньої труби.

Нагріте в колоні до необхідної для стерилізації температури (близько 125 °С) середовище надходить у спеціальний апарат — видержувач, де воно витримується при температурі 120—125 °С. Час витримування залежить від складу середовища (5—10хв.) З видержувача стерильне середовище надходить у зміювиковий холодильник. Тут воно охолоджується до 30—35 °С (на виході) і надходить у ферментатор. Безперервний метод стерилізації має багато переваг перед періодичним методом: можливість автоматичного регулювання процесу, швидке і рівномірне нагрівання середовища, забезпечення більш повної стерильності середовища та інші чинники.

*Підготовка посівного матеріалу* — одна з відповідальних операцій у циклі біологічного методу одержання БАР із культури тканин.

Культуру тканини (колекцію культури) заводу отримують з академій і університетів. Кожна культура має паспорт із докладним описом морфології, фізіології, характеристики середовища для культивування і збереження.

Для твердофазного методу культуру тканини вирощують на агаризованому стерильному живильному середовищі в колбах місткістю 0,25л у термостатованому приміщенні або термостаті з температурою  $27 \pm 1$  °С. Через 38—46діб росту тканину материнської культури ріжуть таким чином, щоб інокулюм складався із вертикального стовпа (верхній шар, середній і частина нижнього шару безагаризованого середовища). Не можна допускати дій на культуру деззасобів, бактерицидних ламп, тому що це призводить до інактивації росту. Зоднієї материнської культури пересаджують 7—9 дочірніх культур і через 38—46діб росту в термостатованому приміщенні відбирають колби з культурами тканин кращих ростових ознак. Для таких культур характерні швидкий ріст, максимальне використання поживного середовища, колір тканини від ясножовтого до молочного, відсутність некротичних включень.

Для глибинного (суспензійного) методу культуру тканини попередньо вирощують на агаризованому стерильному середовищі в пробірці, потім із пробірок висівають у колби з рідким живильним середовищем і проводять дві генерації глибинного вирощування на качалках протягом 38—46діб для кожної генерації. Здругої генерації культури (у колбі) проводять висівання у невеликий (10л) інокулятор, а потім культуру, яка добре розвивається, переносять в основний ферментатор. Для засівання в основному ферментаторі використовують від 5 до 10 об'ємних відсотків посівного матеріалу (інокуляту).

### **Запитання для самоконтролю:**

1. Основні вимоги до середовища на першій стадії культивування продуцента?
2. На які групи поділяються компоненти середовища для вирощування калусних і суспензійних культур?
3. Які основні методи стерилізація живильних середовищ у промислових умовах?
4. Які етапи підготовки посівного матеріалу?

## **Практична робота № 8. Промислове виробництво БАР із культури клітин рослин. Біосинтез БАР.**

Стадія біосинтезу (друга стадія виробництва БАР) — основна біологічна стадія процесу одержання БАР із культури тканин.

Завдання цієї стадії — забезпечення для продуцента БАР таких умов розвитку, які б сприяли максимальному рівню біосинтезу БАР. Ефективність стадії біосинтезу залежить від рівня утворення БАР із культури тканини і визначається генетичними особливостями організму, складом живильного середовища, режимом розвитку продуцента. Вона також залежить від часу максимального утворення БАР, вартості компонентів середовища, піногасників і енергетичних витрат, пов'язаних із процесом розвитку організму — продуцента БАР.

Нині виробництво БАР із культури тканин здійснюють двома способами ферментації: культивуванням на поверхні твердого середовища (твердофазна ферментація) і зануреним глибинним культивуванням (суспензійне).

*Розвиток організму — продуцента БАР у ферментаторах.* Процес розвитку організму—продуцента БАР у ферментаторах проходить за умови суворого контролю всіх стадій, дуже точного виконання розробленого регламенту умов нагромадження БАР. Велика увага приділяється підтримці заданої температури культивування, активної кислотності середовища рН, ступеня аерації і швидкості роботи мішалки. Зогляду на споживання організмом основних поживних компонентів субстрату (джерела вуглеводу, азоту, калію, магнію, фосфору, амінокислот, вітамінів) контролюється утворення БАР.

Особливу увагу під час розвитку продуцента у ферментаторах звертають на процес піногасіння. При продуванні повітря через організм — продуцент БАР часто відбувається густе піноутворення, що суттєво порушує проходження всього процесу розвитку штаму — продуцента БАР у ферментаторі. Основна причина появи великої кількості піни — висока в'язкість живильного середовища, обумовлена сильним нагромадженням біомаси.

Для боротьби з піною у ферментаторах при одержанні біомаси використовують різні поверхнево-активні речовини: рослинні олії (соеву, соняшникову), мінеральні масла (вазелінове, парафінове), спирти і жирні кислоти. Нерідко як піногасники використовують спеціальні синтезовані речовини (силікони, діазобуталкарбоміл та інші сполуки).

Вирощування тканини проводять протягом 70діб. У цей період здійснюють мікробіологічний, біохімічний і візуальний контроль. Візуальний контроль проводять не рідше одного разу в 10днів — відбраковують інфіковані тканини.

### *Попередня обробка біомаси (третя стадія).*

У процесі розвитку організму — продуцента БАР ці речовини майже повністю виділяються з клітин у навколишнє середовище. Однак у деяких випадках лише частина БАР виділяється в культуральне середовище, а інша частина зберігається усередині клітин. У деяких продуцентах БАР вони майже повністю містяться в клітинах організму.

Залежно від того, де антибіотична речовина зосереджена, застосовують відповідні методи її екстракції.

При твердофазному способі культивування з колби місткістю 0,25л із добре вирощеної культурної тканини спочатку знімають сиру біомасу, потім сушать біомасу на листах при температурі  $58 \pm 2$  °С. Час сушіння біомаси залежить:

- від початкової вологості біомаси;
- товщини шару біомаси;
- температури сушіння.

Закінчення процесу сушіння визначають на дотик. Не повинно бути м'яких вологих грудок. Суха маса повинна мати забарвлення від жовтого до коричневого кольору, має бути пухкою, легко розсипатися при продавлюванні між пальцями. Залишкова вологість біомаси після висушування — не більше 12 %. Потім суху біомасу подають на стадію виділення та очищення БАР з аналітичним паспортом на вміст БАР.

При глибинному культивуванні, якщо БАР знаходиться в культуральній рідині, її виділяють методами екстракції розчинниками, які не змішуються з рідкою фазою, або осаджують у вигляді нерозчинної сполуки, або сорбують іонообмінними смолами.

Виділення БАР із клітин організму-продуцента здійснюють за допомогою екстракції органічними розчинниками. Якщо БАР містяться в культуральній рідині та в клітинах продуцента, первинною операцією їх виділення є переведення у фазу, з якої найбільш доцільно їх ізолювати. Для цього БАР, яка міститься в культуральній рідині і в клітинах продуцента, переводять в осад, а потім її екстрагують.

Відділення нативного розчину від біомаси і завислих частинок проводять методами фільтрації або центрифугування.

Для процесу фільтрації використовують різні фільтрувальні апарати: фільтрпрес, нутч-, друк-фільтри, центрифуги, сепаратори.

Фільтрпреси використовують для обробки великих об'ємів культуральної рідини. Ці апарати складаються із плит і рам, що чергуються, і фільтрувальних перегородок між ними. Процес фільтрації здійснюється під тиском. Для фільтрації невеликих об'ємів культуральної рідини звичайно використовують

нутч-, друкфільтри. Перший апарат працює під вакуумом, другий — в умовах підвищеного тиску над рідиною, що фільтрується.

Для одержання рідини, звільненої від завислих частинок, найбільшого поширення набув метод центрифугування. Хороші результати досягаються при правильному виборі швидкості подачі рідини (кращий варіант — 15 000 об/хв).

Відділення міцелію або інших завислих частинок може також відбуватися в сепараторах. При швидкості обертання барабана, яка дорівнює 7000—7500 об/хв, завдяки відцентровій силі тверді частинки спрямовуються до стінок барабана, де й осаджуються, а відсепарована рідина спрямовується до центра барабана і піднімається в спеціальні камери.

#### *Виділення та очищення БАР (четверта стадія).*

У процесі утворення БАР у біомасі (твердофазний спосіб культивування) і в культуральній рідині (глибинний спосіб культивування) разом із різними невикористаними компонентами середовища виділяються і різноманітні продукти обміну, продукти автолізу клітин. Видалення домішок — перша і дуже важлива стадія хімічного очищення БАР.

Стадія виділення і хімічного очищення включає низку процесів: від обробки нативного розчину до висушування готового очищеного препарату. На цій стадії, залежно від властивостей БАР, їх хімічної будови і місця основного накопичення застосовують різні методи виділення та очищення. Як основні методи застосовують екстракцію в системах рідина—рідина, екстракцію осадження, сорбцію на різних сорбційних матеріалах, мембранні методи очищення, кристалізацію, упарювання, висушування.

Однією з особливостей стадії виділення і очищення є те, що під час виділення БАР доводиться працювати з дуже невисокими концентраціями речовин, що виділяються, (не перевищують 2 %).

#### **Запитання для самоконтролю? :**

- 1.** В чому суть стадії біосинтезу виробництва БАР?
- 2.** За яких умов проходить процес розвитку організму—продуцента БАР у ферментаторах?
- 3.** Які методи екстракції залежно від локалізації антибіотичної речовини?.
- 4.** Які стадії виділення та хімічного очищення БАР?

## Практична робота № 9.

### Загальна характеристика РРР. Особливості дії фітогормонів на ріст і розвиток тканин і органів, формування насіння і плодів.

Регулятори росту знаходять все більше застосування в сучасних технологіях виробництва продукції рослинництва. До них належать природні та синтетичні органічні сполуки, які у малих дозах активно впливають на обмін речовин рослин, викликаючи стимуляцію або пригнічення їх росту і морфогенез. Фітогормони - сполуки, за допомогою яких здійснюється взаємодія клітин, тканин і органів, що у малих кількостях необхідні для регуляції фізіологічних і морфогенетичних процесів рослин. До природних РРР належать фітогормони: ауксини, гібереліни, цитокініни, абсцизова кислота, етилен, brassinоліди та ін.

*1. Загальна характеристика РРР* Ауксин – це сполуки переважно індольної природи: індулілоцтової кислота та її похідні. Ауксини утворюється в апікальних меристемах і стимулюють поділ клітин.

Гібереліни прискорюють ріст стебла, у меншій мірі - кореня за рахунок, як поділу, так і розтягування, переривають період спокою у насіння, бульб та цибулин, індукують цвітіння рослин, стимулюють проростання, впливають на біосинтез ферментів. Обробка озимих гіберелінами замінює яровизацію.

Цитокініни - похідні 6-амінопурина, синтезуються головним чином у меристемі кореня, беруть участь у регуляції обміну речовин у надземних органах, індукують у присутності ауксину поділ клітин.

Абсцизова кислота накопичується восени в насінні, індукує їх перехід у період спокою і збільшує його тривалість, гальмує зростання відрізків стебел і калеоптілей.

Етилен - міститься в різних органах рослин, сприяє уповільнення росту, прискоренню старіння клітин, дозрівання і опадання плодів.

Brassinоліди - підтримують імунітет рослин в стресових ситуаціях (зменшення температури, посуха, заморозки, засолення ґрунту, хвороби, дію пестицидів). Перший епі-brassinолід був виділений американськими вченими в 1979р. з пилку ріпаку, він володіє біорегуляторних та ростостимулюючою активністю. Природні РРР не представляють будь якої небезпеки для навколишнього середовища і людини, тому що в процесі еволюції біосфери і організму людини вироблялися відповідні механізми їх біотрансформації.

Синтетичні РРР одержують хімічним або мікробіологічним шляхом. З фізіологічної точки зору вони є аналогами ендогенних фітогормонів, або можуть впливати на біосинтез і функціонування



гормонів рослин. Їх застосовують з метою впливу на процеси росту, розвитку і життєдіяльності рослин, забезпечення врожайності, поліпшення якості. До цієї групи сполук можна віднести також гербіциди, викликають затримку росту і загибель сеgetальної рослинності. Відомо, що гербіциди в залежності від дози можуть виявляти як інгібуючу, так і стимулюючу дію.

*Особливості дії фітогормонів на ріст тканин і органів, формування насіння і плодів.*

Фітогормони поліфункціональні, регулюють багато фізіологічних процесів, фізіологічна дія їх на рослину залежить від наступних факторів: специфіки фітогормону - спектру фізіологічних дій на рослинний організм даного фітогормону; специфіки об'єкта - видових, органних, тканинних, вікових та інших особливостей рослинного об'єкта, що визначають його сприйнятливість до фітогормонів; концентрації фітогормону - певних меж концентрацій, в яких фітогормони активує або пригнічує цей фізіологічний процес; співвідношення даного фітогормону з іншими-від функціонування багатокomпонентної гормональної системи, що складає гормональне поле рослин; забезпеченості рослини необхідними чинниками мінерального живлення; ендогенного вмісту фітогормону - відповідної реакції рослинного об'єкта на екзогенний гормон, що залежить від його концентрації всередині рослини; факторів зовнішнього середовища (світло, температура, вода та ін), що створюють необхідні умови для дії фітогормону.

*Фізіологічні функції фітогормонів*

Фізіологічні функції ауксину. Стимулює всі три фази росту клітин. З цією дією пов'язані утворення коренів, камбіальна активність та ріст калюсу, розростання зав'язі партенокарпічних плодів. Ауксин регулює формування провідних пучків, обумовлює явище фото-і геотропізма у рослин, пов'язані з несиметричною його розподілу. Визначає апікальне домінування - зростаюча верхівка пагона пригнічує спонукання і зростання пазушних бруньок. Стимулює ризогенез і потовщення бічних коренів. Формування бічних коренів є наслідком активізації ауксинів поділу клітин перициклу. Вторинне ж потовщення кореня регулюється ауксинів спільно з цитокінінів. Ауксини регулюють транспорт і розподіл різних речовин у рослині; стимулює утворення коренів на листових і стеблових черешках. Регулює зростання, цвітіння і дозрівання плодів. Регулює опадання листя, зав'язей і плодів. Фізіологічні функції гібереліни. Регуляція росту рослин. Під дією гібереліну подовжуються стебло, листя, особливо у злаків, квітки, суцвіття стають більшими.

Обробка гібереліну не впливає на ріст кореня або пригнічує його при використанні підвищених концентрацій. Регулювання цвітіння. Обробка рослин гібереліни прискорює цвітіння рослин довгого дня. На зацвітання рослин короткого дня гібереліни не діють. Регулювання стану спокою. Насіння та бульби багатьох рослин перебувають у стані спокою і не проростають навіть у сприятливих умовах зволоження, аерації і температури. Обробка гіберелінами викликає їх проростання. Цей прийом використовують для стимуляції проростання щойно зібраного бульб картоплі при повторній висадці. Регулювання плодоношення. Розвиваються після запліднення насіння продукують гіберелінів, необхідні для росту та формування соковито-плодових плодів. Нестача необхідних гібереліни викликає припинення росту плодів. Обробка гіберелінами сприяє формуванню великих безнасінних плодів у томата, винограду, цитрусових, зерняткових і кісточкових порід.

Вплив на метаболізм рослин. Обробка рослин гіберелінами підвищує інтенсивність фотосинтезу, незважаючи на зменшення вмісту хлорофілу, посилює дихання, при нормальному водопостачанні інтенсивність транспірації. Фізіологічні функції цитокінінів. Впливають на ріст клітин. Цитокініни - первинний фактор індукції клітинних поділів, активізують ріст клітин дводольних рослин у довжину. Дія на органогенез. Цитокініни стимулюють формування і ріст пагонів, але пригнічують ріст коренів, викликає перехід рослин в умовах несприятливого фотоперіодичної або температурного режиму.

Зняття апікального домінування. Стимулюють ріст бічних бруньок. Використовують для отримання розгалужених рослин в культурі, в селекції, провокуючи обробкою цитокінінів розгалуження, відбирають ті що не галузяться форми рослин.

Переривання спокою. Виводять зі стану глибокого спокою бульби, і насіння ряду рослин, сплячі бруньки деревних рослин, підвищують енергію і схожість насіння гороху, кукурудзи, люпину та ін.

Фізіологічні функції абсцизової кислоти (АБК). Абсцизова кислота є інгібітором широкого спектру дії. Вплив на процеси спокою. Перехід до відпочинку насіння, бульб, цибулин і нирок пов'язаний із збільшенням в них вмісту АБК. Зміст АБК підвищується в зимуючих органах багаторічних бобових і злакових трав, озимих зернових. Регуляція процесів старіння і відторгнення органів. Підвищення вмісту в листі АБК викликає загальне старіння листя і плодів, що передуює їх опадання. При цьому АБК взаємодіє з етиленом, біосинтез якого різко збільшується.

Координація ростових процесів. АБК виступає координатором ростових процесів, кореляційним інгібітором, відповідальним за гальмування росту і метаболічних процесів певних органів рослини, яке необхідне для нормального функціонування інших органів.

Регулювання водного режиму. АБК бере участь у регуляції продихової щілини. При зневодненні листя вміст АБК швидко підвищується. Це супроводжується закриванням продихів, що знижує транспірацію. При обробці листя АБК осмотичний тиск у продихові клітинах швидко зменшується в результаті підвищення вмісту крохмалю і різкого падіння іонів калію.

Фізіологічні функції етилену. Інгібування росту. Етилен гальмує ділення клітин, подовження проростків, зупиняє ріст листя (у дводольних), змінює напрямок росту клітин з поздовжнього на поперечний, що призводить до зменшення довжини і потовщення стебла. Регуляція процесів старіння, опадання листя і генеративних органів. Етилен, сприяючи старіння тканин, прискорює опадання листя і плодів. Це проявляється, перш за все, в спеціалізованих клітинах, які беруть участь у формуванні видільними шару. Етилен прискорює дозрівання плодів і використовується для дозрівання плодів у спецкамері. Регулювання тривалості спокою. Етилен збільшує спокій насіння, бульб, хоча в ряді випадків, навпаки, виводить зі стану спокою, що використовується при боротьбі з бур'янами.

Вплив на генеративну сферу. Етилен сприяє зсуву статі рослин в жіночу сторону, змінює співвідношення жіночих і чоловічих квіток у деяких сортів огірка, сприяє підвищенню врожайності. Участь у кореляційних взаємодіях. Етилен грає роль медіатора гормонального комплексу в процесах кореляційних взаємодій в рослині. Для підвищення концентрації етилену в тканинах рослин їх обприскують розчином етрела (етіленпродуцент).

Фізіологічні функції фенольних сполук. Різноманітність цієї групи сполук визначає їх поліфункціональність в рослинах. Феноли впливають на процеси росту і розвитку. Активуючи оксидазу ауксину або, навпаки, інгібуючи її дію, феноли, мабуть, регулюють кількість ауксину в клітині.

Фенольні інгібітори грають важливу роль в спокої насіння, бруннюк, бульб та цибулин. Концентрація фенолів зростає в них при входженні в спокій і знижується при його завершенні. Феноли беруть участь у транспорті електронів при диханні і фотосинтезі, в біосинтезі лігніну; деякі з них порушують окислювальне фосфорилування.

### **Запитання для самоконтролю:**

1. Що таке фітогормони?
2. Де утворюються ауксини, їх основні функції?
3. Як впливають фітогормони на метаболізм рослин?
4. Які фізіологічні функції етилену?

### **Практична робота №10. Вплив БАР на ріст і морфогенез рослин. Механізм дії фітогормонів. Використання фітогормонів і фізіологічно активних речовин.**

Стійкість рослин до впливу несприятливих факторів середовища пов'язана із захисними реакціями, що формуються за участю гормонів. У період дії стресу переважає роль гормонів-інгібіторів, а при виході рослин із стану стресу - гормонів-активаторів. Абсцизова кислота є основним чинником уповільнення обміну речовин при дії стресу, що пов'язано з її здатністю інтенсивно накопичуватися в клітинах, тканинах і органах, а при поліпшенні умов швидко піддаватися деградації. Абсцизова кислота накопичується в рослинах при нестачі води. Етилен також інтенсивно утворюється в рослинах у відповідь на дію посухи, спеки, на пошкодження комахами і інфекцію, на механічні травми та ін «Стресовий» етилен сприяє відмирання і відторгнення пошкоджених тканин, листя та інших органів рослин, що забезпечує нормальну роботу в цілому. При посуху, нестачі мінеральних елементів живлення порушується синтез цитокінінів в корневих кінчиках і їх транспорт в надземну частину рослин. За допомогою екзогенних цитокінінів вдається підвищити стійкість клітин до різноманітних стресових впливів, зберегти життєздатність листя.

#### *Взаємодія фітогормонів.*

В.І. Кефелі (1991) вважає, що для забезпечення кожного фізіологічного процесу є домінуючий гормон, а інші гормони супроводжують його. Регуляцію проростання насіння можна представити як домінування гібереліну, цитокініни або ауксину з редуційним вмістом ендогенного інгібітора; Регуляцію росту коріння - як дію ауксину з редуційним вмістом інгібітора; регуляцію росту стебла - як функцію спільної дії гібереліну і інгібітору; старіння стебла - як домінування інгібіторів з редуційним змістом гібереліни; старіння листя - як домінування АБК з редукованим вмістом цитокінінів. Слід підкреслити, що ауксин індукує, а гіберелін припиняє процес утворення коріння; озеленення листа запускає цитокініни, а АБК його зупиняє. Цитокініни

викликають зростання бічний бруньок, а ауксин призупиняє його. В старіючих органах зменшується вміст ауксинів, і збільшується етилену, починається формування видільними шару. Якщо ауксини сприяють біосинтезу білків, клітковини й пектинів у рослині, то етилен – їх розпаду.

Антагонізм цитокінінів і абсцизової кислоти проявляється в ростових явищах, рух проростків, процесі старіння та ін. Підвищення концентрації ауксину в одному органі рослини призводить до накопичення етилену і АБК в інших.

Взаємодія фітогормонів у рослині на рівні біосинтезу можливо завдяки їх загальному попередника та взаємодії метаболічних гілок, що ведуть до активації або пригнічення біосинтезу гормонів кінцевим продуктом.

#### *Вплив фітогормонів на ріст і морфогенез рослин.*

Проростання насіння супроводжується вивільненням гіберелінів, цитокінінів і ауксинів із зв'язаного стану в зародку. Із зародка ці гормони забезпечують мобілізацію запасних білків, вуглеводів та ін, сприяючи розвитку зародка, а також стимулюють початок процесів поділу і розтягування клітин в органах зародка, запуск всього ростового процесу молодого рослини. Провідна роль на цьому етапі належить гіберелінам. Гібереліни викликають в ендоспермі синтез гідролітичних ферментів, які розщеплюють пов'язані гормонально-білкові комплекси ауксинів і цитокінінів. Апікальна меристема починає зростання зародкового кореня синтезує цитокініни, які стимулюють зростання калеоптіля і гальмують розвиток бічних коренів. Синтезується у верхівці калеоптіля ауксин активує розтягнення клітин в калеоптілі, а також закладення бічних і додаткових коренів. Апікальні меристеми утворюються коренів інтенсивно синтезують цитокініни і гіберелінів, стимулюючи зростання втечі.

Розвиток проростка. Надалі лист прориває калеоптіль, і проросток перетворюється на ювенільних рослин, здатна до автотрофного харчування. Регуляція росту окремих органів рослини (стебло, корінь, листя) здійснюється, насамперед, за рахунок зміни співвідношення ендогенних гормонів і визначається відмінностями в реакції кожного органу на подібні зміни балансу фітогормонів.

У процесі зростання основну роль відіграє ауксин і абсцизова кислота. Після проростання на поверхню ґрунту, рослина орієнтується у бік світла в результаті підвищення вмісту ауксину на тіншовій стороні проростка (позитивний фототропізм) і посиленого розтягування клітин

цієї зони. На світлі проросток розгортає листя, лінійний ріст стебла загальмовується, він потовщується, починається фотосинтез. У хлоропластах накопичується гіберелінів, АБК, ряд поліфенолів. У листя з коріння надходять цитокініни. Активно ростуть листя за допомогою руху черешків (филлотаксисом) розташовуються на стеблі так, щоб фотосинтез був максимальним. Филлотаксисом визначається рух ауксину. Зростаючий листок крім власних продуктів фотосинтезу використовує асимілянти іншого листя за рахунок синтезу і накопичення в молодому листі фітогормонів, що сприяють припливу поживних речовин. У повністю розвиненому листку знижується вміст цих гормонів і підвищується концентрація інгібіторів росту.

Розмноження. Перед цвітінням зменшується активність ауксину, а ряд рослин синтезує велику кількість інгібіторів. Рівень гібереліни у рослин довгого світлового дня різко зростає. Для зростаючої пилкової трубки характерно підвищений вміст ауксинів; після запліднення в сім'ябруньки зростає рівень цитокінінів, а потім ауксинів. Насіння стає активним центром тяжіння поживних речовин з інших органів рослини. У ньому накопичуються також фітогормони в зв'язаній формі. У період активного росту насіння зазвичай сильно оводнено, тому що ауксини інтенсивно притягають воду.

У подальшому вміст ауксинів і гібереліни в насіння знижується при одночасному зростанні АБК. Накопичуються інгібітори росту сприяють експорту поживних речовин в насіння і плоди. У соковитих плодах при дозріванні насіння кількість стимуляторів у м'якоті знижується при одночасному збільшенні вмісту етилену і АБК. У зимуючих органах рослин формуються зародкові структури: бруньки з зародковим стеблом, бульби з вічками, цибулини та ін, що переходять у стан спокою. У рослинах знижується вміст гормонів-стимуляторів, накопичуються інгібітори, і посилюється їх активність. Спочатку накопичуючись в листі, інгібітори потім переміщуються в бруньки, забезпечуючи перехід рослин до стану спокою. У період глибокого спокою в рослинах зменшується кількість інгібіторів, а зміст стимуляторів інтенсивно зростає навесні при відновленні проростання. Стан спокою, супутні йому інгібітори росту захищають багаторічні і зимуючі рослини та їх органи розмноження від несприятливих умов зимівлі, перешкоджають передчасному розвитку ростових процесів.

Гормональна регуляція бульбоутворення. Всі фітогормони беруть участь у бульбоутворення рослин. Процес бульбоутворення проходить дві фази: виникнення і зростання стolonів; формування і зростання бульб.

Функціональна роль фітогормонів в цих процесах наступна: ауксини синтезуються в стеблових бруньках і прилеглих молодих листках, стимулюють коренеутворення і гальмують утворення бульб; гібереліни синтезуються в листі, стимулюють зростання стolonів, затримуючи розвиток бульб; абсцизини затримують ріст стolonів і тим самим стимулюють утворення бульб; цитокініни синтезуються в коренях і викликають потовщення стolonів та розвиток бульб.

Між вмістом у зростаючих бульбах картоплі фітогормонів - стимуляторів росту і інтенсивністю припливу в них асимілянтів з бадилля є прямий зв'язок. Осінні бульби картоплі містять велику кількість речовин, що надійшли з бадилля. Це АБК, фенольні інгібітори, найбільш активні в шкірці і периферійної частини паренхіми бульб. З початком зими рівень інгібіторів у бульбах знижується, а навесні вони майже повністю зникають.

#### *Механізм дії фітогормонів.*

Фітогормони, володіючи поліфункціональною дією, регулюють багато біохімічні процесів рослин. Переміщаючись в рослині, гормони проникають в клітини тканин-мішеней, що відрізняються підвищеною чутливістю до гормонів. Проникнувши в клітини, гормон зв'язується з білками-рецепторами, які є провідниками гормональної дії в клітині. Взаємодія гормону і рецептора призводить до біохімічних реакцій, які забезпечують реалізацію фізіологічної дії даного гормону. Відомі 2 типу рецепторів: внутрішньоклітинні розчинні білки-рецептори, що зв'язують фітогормони і мігруючі між цитоплазмою і ядром; мембранні білки-рецептори, що зв'язують фітогормони з позаклітинного простору. Рецептори першого типу, зв'язавши гормон, впливають на метаболізм у клітині, змінюючи рівень транскрипції відповідних генів ДНК ядра та органел (експресія геному). Виявлено розчинні зв'язуючі білки першого типу для ауксини, цитокініни і гібереліну. Мембранні білки-рецептори другого типу, утворивши комплекс з гормоном, викликають швидке збільшення в клітці концентрації метаболітів-посередників, за допомогою яких реалізується фізіологічну дію фітогормону. Таким чином, механізм дії фітогормонів в клітині зводиться, перш за все, до активації специфічних генів, відповідальних за синтез необхідних ферментів. Фітогормони впливають також на структуру і функції клітинних мембран, рибосом, ендоплазматичного ретикулуму, що призводить до зміни метаболізму клітини. Механізми дії як мембранно-зв'язаних, так і розчинних комплексів білок - гормон вивчені недостатньо. Біосинтез самих фітогормонів контролюється геномом рослини.

### *Використання фітогормонів і фізіологічно активних речовин.*

Регулювати ріст і розвиток рослин – процес збалансованої дію речовин, що прискорюють і затримують ці процеси.

Гербициди. Це синтетичні препарати, що викликає гальмування росту і загибель рослин у зв'язку з відмиранням точок росту. Основою застосування гербицидів є їх вибіркова дія на різні рослини. Різна чутливість рослин до гербицидів пов'язана з особливостями їх морфології та обміну речовин, ферментативної системи. У чутливих рослин гербицид порушує полярність, викликає потовщення пагонів, опадання листя, морфози, в результаті життєдіяльність рослин дезорганізується і настає їхня загибель.

Ретарданти. Це синтетичні регулятори, які гальмують біосинтез гібереліни, що пригнічують ріст стебла і вегетативних пагонів, що додають рослинам стійкість до вилягання. У той же час вони сприяють зростанню коренів, листя, підвищують вміст хлорофілу, стійкість рослин до несприятливих умов. До ретардантів відносяться ССС (або тур), які стримують вегетативний ріст крони плодкових дерев і стимулюють плодоношення, фосфон, прискорює ріст декоративних культур та інші сполуки. ССС (хлорхолінхлорид) знижує зростання стебла озимої та ярої пшениці, ярого ячменю, але робить стінки товщі, підвищує продуктивну кущистість. Застосовується проти вилягання в посівах зернових, та злакових трав. Ретарданти широко застосовують у декоративному садівництві.

Регулятори дозрівання. Це речовини, що прискорюють досягнення рослиною, її органами зрілого стану. Затримка опадання зав'язей у томата досягається застосуванням ауксину.

Обробка гібереліни забезпечує стимуляцію росту листя чайного куща, ріст рослин у декоративному квітникарстві, отримання довговолокнустих стебел і підвищення врожайності конопель, вихід волокна і поліпшення його якості.

Регулятори спокою. Продовжити спокій, поліпшити лежкість бульб, коренеплодів і цибулин можна обробкою посівів за 12-15 днів до збирання гідразидом малеїнової кислоти (ГМК). Для переривання спокою щойно зібраного бульб ранньої картоплі їх обробляють розчином гібереліну і, що стимулює пробудження вічок.

Регулятори вегетативного розмноження рослин. Для поліпшення коренеутворення у живців, сіянців, саджанців та дорослих дерев і чагарників застосовують аналог ауксину (ІОК) - НУК і ІМК. ІУК,



потрапляючи в тканини рослини, швидко руйнується і тому малоприматний для практичних цілей.

Дефоліанти та десиканти. Застосовують для прискорення опадання і засихання листя, що необхідно при механізованому збиранні бавовнику та інших культур. Дефоліанти - речовини, що викликають опадання листя, десиканти - речовини, що сприяють обезводнення рослинних тканин.

Активатори (регулятори) транспорту речовин в рослині. Набувають все більш важливе значення синтетичні регулятори, що прискорюють транспорт поживних речовин, що активізують їх накопичення в господарськочисних органах (плодах, насінні). До таких препаратів належать речовини, що інтенсифікують відтік вуглеводів їх листя цукрового очерету або цукрового буряка в стебла або корені.

### **Запитання для самоконтролю:**

1. Які фітогормони впливають на стійкість рослин до стресових факторів?
2. Виділенням якого фітогормону домінує у процесі проростання насіння?
3. Який механізм дії фітогормонів?
4. Який вплив ретардантів та дефоліантів на культурні рослини?

### **Практична робота № 11. Проблеми застосування регуляторів росту рослин при вирощування садивного матеріалу.**

Біологічно активні речовини (БАР), в тому числі фітогормони — регулятори (стимулятори) росту і розвитку рослин (РРР), у сучасних умовах набувають все більшого значення. Їх застосування в землеробстві, рослинництві та лісівництві дає результати, яких не можна досягнути іншими методами. Використання цих препаратів дозволяє повніше реалізувати генетичні можливості, підвищити стійкість рослин проти стресових факторів біотичної та абіотичної природи і в кінцевому результаті збільшити урожай і поліпшити його якість. Зважаючи на це, Організація Об'єднаних Націй ще в 1973 р. рекомендувала використання РРР у всесвітньому масштабі для підвищення виробництва продукції у агропромислових комплексах.

Вважається, що, поряд з добривами і пестицидами, вони мають зайняти важливе місце в системах удосконалення технологій виробництва рослинної продукції. Згідно з сучасними уявленнями, під РРР розуміють природні та синтетичні органічні речовини, яким властива значна біологічна активність які у малих дозах змінюють фізіологічні і біохімічні процеси, ріст, розвиток й формуванні урожаю сільськогосподарських рослин, не спричиняючи токсичної дії.

Зокрема, при внесенні ззовні в рослину, вони включаються в обмін речовин і активізують фізіолого-біохімічні процеси, підвищуючи рівень життєдіяльності рослин. Відомо, що всі РРР можна умовно поділити на декілька груп залежно від їх здатності впливати на процеси клітинного поділу, керувати процесами розтягування й формування клітинної стінки, змінювати її структуру та архітекtonіку, фізико-хімічні й механічні властивості, габітус всієї рослини, її стійкість проти вилягання тощо.

Одні об'єднують біологічно активні речовини, які контролюють клітинну диференціацію, формоутворення, взаємодію між частинами і органами рослин, вибірково і специфічно включаються в найважливіші метаболічні процеси — дихання, фотосинтез, транспорт органічних речовин, беруть участь у регуляторних механізмах клітини на метаболічному рівні.

До окремої групи біологічно активних речовин належать сполуки, за допомогою яких можна керувати станом спокою і процесами старіння клітини та в цілому рослини. Вони використовуються для виведення із стану спокою рослин або їх частин, регуляції процесів дозрівання листя, плодів та ін. Основні природні РРР включають ауксини, цитокініни, гібереліни, абсцизову кислоту та етилен; крім того, до фітогормонів належать так звані нетрадиційні фітогормони: брасиностероїди, саліцилова і жасмонова кислоти. Серед них найбільш детально вивченими є ауксини. Доведено, що вони беруть участь у регуляції різноманітних ростових і формоутворюючих процесів, зокрема стимулюють розтягування клітин і активують ферменти, що відповідають за міцність клітинної стінки. Гібереліни виділено з рослин і мікроорганізмів. Серед них найбільш поширеним є гіберелін А3 (гіберелінова кислота), який прискорює ріст, що пов'язано зі стимуляцією клітинного поділу, хоча може спричинювати й розтягування клітин. Цитокініни впливають на ряд фізіолого-біохімічних процесів, стимулюючи синтез основних біомакромолекул — білків і нуклеїнових кислот, активізуючи клітинний поділ, підвищуючи інтенсивність фотосинтезу, прискорюючи транспортні процеси у мембранах, регулюючи надходження елементів живлення в клітину рослини, виконуючи захисну дію від несприятливих екологічних факторів. До синтетичних РРР належать препарати, що є структурними аналогами природних фітогормонів, а також

гербіциди та ретарданти. Аналіз стану використання біологічно активних речовин показує, що в усьому світі на великих площах застосовують не ендогенні сполуки, а синтетичні РРР. Фітогормони природного походження через їх високу вартість за деякими винятками недоцільно застосовувати у виробничих умовах.

Нині в Україні проводяться багатопланові роботи зі створення РРР нового покоління (синтетичних і природних), починаючи з первинного скринінгу цих речовин і всебічних досліджень їх фізико-хімічних, фізіологічних та токсикологічних властивостей до впровадження в сільськогосподарське виробництво. Синтезовано понад 125 сполук похідних піридину, зокрема N-оксидів піридину. серед них виявлено екологічно нешкідливі речовини, що при низьких нормах витрат характеризуються високою фунгіцидною, бактерицидною та рістрегулюючою активністю. На основі цих сполук та їх композицій з природними біостимуляторами розроблено ряд ефективних, низьковитратних, екологічно безпечних РРР і технологій їх застосування для більшості сільськогосподарських культур.

Встановлено, що ці препарати малотоксичні і згідно з санітарногігієнічною класифікацією належать до III–IV класів небезпеки. Вони швидко утилізуються сапротрофними мікроорганізмами, нетоксичні для ґрунтової мікрофлори і фауни, гідробіонтів, комах-запилювачів, інших біологічних об'єктів. Широкомасштабне виробниче застосування РРР у нашій державі тільки розпочинається. Тому для успішного їх практичного використання важливе значення мають результати досліджень закономірностей дії цих препаратів. Так, показано, що фітогормони виявляють свою дію лише тоді, коли в рослинах їх недостатньо (при проростанні насіння, цвітінні, порушенні цілісності організму, при дії несприятливих умов зовнішнього середовища тощо). Фізіологічна дія фітогормонів та ефективність їх застосування залежать також від виду і концентрації препаратів, виду рослин, фази їх росту, розвитку і фізіологічного стану, рівня мінерального живлення, а також кліматичних умов. Як свідчить аналіз, основними напрямками застосування вітчизняних РРР є вирощування основних сільськогосподарських культур, в основному зернових, овочевих, технічних. Польові випробування препарату триман-1 як при передпосівній обробці насіння, так і при обприскуванні посівів при нормі витрати 5–20 г на 1 т насіння чи на 1 гектар посівів на ґрунтах різних типів України свідчать про позитивний вплив його на ріст, розвиток і урожай сільськогосподарських культур (зернових, кормових, технічних, овочевих) і якість рослинної продукції. Так, збільшення урожаю зернових культур при застосуванні триману-1 складало 14–26 %, вмісту білка — 0,6–1,5 % і клейковини — 1,5 %. Використання цих препаратів при

вирощуванні садивного матеріалу деревних порід ще не набуло широкого розповсюдження, тому метою нашого дослідження було, використовуючи літературні дані, дати оцінку їх практичної перспективності. Результати дослідження. Ще у 70–80 рр. минулого століття було опубліковано ряд фундаментальних робіт, присвячених дослідженню біологічно активних речовин, їх впливу на ріст і розвиток рослин, у тому числі лісових порід, з'ясуванню механізму їх дії. У 1983 р. у монографії Т.В. Лихолата, присвяченій РРР деревних порід, описано їх застосування для прискореного проростання насіння різних видів, стимуляції коренеутворення, плодоносіння, а також для інтродукції та акліматизації рослин. Наведено також найновіші на той час дані, підтвержуючи перспективність використання РРР. З часом було одержано додаткові дані щодо позитивної дії РРР на деревні рослини. Під їх впливом інтенсифікуються процеси синтезу білкових речовин і цукру, зменшується в'язкість протоплазми, покращується її проникність, відновлюваність тканин, збільшується вміст хлорофілу, зростає активність фотосинтезу, підсилюється розвиток кореневої системи, особливо придаткових коренів. Разом з цим багато питань залишається нез'ясованими, особливо стосовно важкоукорінюваних деревних порід. У зв'язку з цим у подальшому значна увага стала приділятися розробці різних видів біостимуляторів як для підсилення росту, так і поліпшення якості садивного матеріалу лісових порід. Так, встановлено позитивний рістрегулюючий вплив параамінобензойної кислоти (ПАБК) при позакореневій обробці сіянців сосни і ялини розчинами цього препарату. Порівняно з гібереліновою кислотою та гетероауксином ПАБК більшою мірою стимулює ріст кореневої системи та накопичення біомаси рослин. Оптимальні концентрації ПАБК для сосни —  $1 \cdot 10^{-7}$ – $1 \cdot 10^{-5}$  %, для ялини —  $1 \cdot 10^{-7}$ – $1 \cdot 10^{-3}$  %. Результати роботи свідчать про доцільність застосування ПАБК у низьких концентраціях при вирощуванні садивного матеріалу хвойних порід у лісових розсадниках. Позитивну дію ПАБК було підтверджено й іншими авторами. При обробці насіння сосни і ялини водним розчином цього препарату у концентраціях від 0,001 до 0,06 % протягом 5, 8, 10 та 16 год. з наступним висівом у ґрунт спостерігали стимулюючий ефект, який виявлявся при всіх досліджуваних дозах, особливо на другий рік вирощування рослин. В окремих варіантах дослідження обробка насіння розчинами ПАБК підвищила вихід стандартних сіянців сосни та ялини на 175 % порівняно з контролем. А.Р. Родин описав, вивчаючи вплив біологічно активних речовин різної природи на схожість насіння, ріст та збереження сіянців чотирьох видів сосни, які вирощувалися в неоднакових ґрунтово-кліматичних умовах, встановив, що краща схожість насіння була при його передпосівній обробці гетероауксином. Гіберелін також позитивно впливав на ріст сіянців. У Всеросійському НДІ

хімізації лісового господарства проведено дослідження ефективності застосування біостимуляторів при вирощуванні сіянців сосни та модрина. Встановлено, що стимулятори росту емістим, СИЛК, агат-25К підсилюють ріст сіянців на всіх етапах їх вирощування у посівному відділенні розсадника. Вихід стандартного садивного матеріалу з одиниці площі збільшувався у середньому на 30, що забезпечувало суттєвий економічний ефект. Найбільша ефективність відмічена при обробці сіянців емістимом та агатом-25К. при використанні СИЛК одержані результати були нестабільними. Вивчаючи у Чуміковському лісгоспі (Хабаровський край) вплив стимуляторів росту на ріст сіянців різних деревних порід, Ю.С. Пентелькіна встановила, що передпосівна обробка насіння скорочує строк вирощування сіянців у розсаднику на 1 рік і проведення агротехнічного догляду. За реакцією на передпосівну обробку насіння стимуляторами росту деревні породи розміщуються відповідно до зростання у такій послідовності: ялиця білокора < ялина саянська < модрина амурська, охотська, даурська < сосна звичайна. Високу пластичність модрина та сосни пояснюють біологічними особливостями порід. Для посіву у промислових умовах рекомендують передпосівну обробку насіння з використанням імуноцитопіту, спор ґрунтових і лісових грибів. Тепер значну увагу приділяють БАР на основі кремнію. Так, у Лісовому коледжі університету Бейхуа (Китай, College of Forestry, Weihua Univ., Jilin) визначали вплив наноструктурованого діоксиду кремнію (TMS) різних концентрацій на інтенсивність розвитку однорічних сіянців модрина ольгінської *Larix olgensis*. Корені сіянців протягом 6 годин вимочували у розчинах TMS концентрацій 2000, 1000, 500, 250, 125 та 62 мкл/ л. Потім протягом вегетаційного періоду (травень–жовтень) сіянці регулярно вимірювали кожні 15 днів. Кращі результати одержали при обробці їх розчином TMS концентрацією 500 мкл/ л: середня висота, діаметр кореневої шийки, довжина головного кореня та кількість бокових перевищували контроль (без обробки TMS) відповідно на 42,5; 30,7; 14,0 та 31,6 %. При цьому сіянців третьої категорії не виявлено, а першої і другої була однакова кількість. Тут також відмічено найбільш високий вміст хлорофілу у хвої. У Башкирському сільськогосподарському інституті синтезовано речовину індолін, що має ауксиноподібну активність. У дослідках з 3-річними сіянцями ялини сибірської, берези пониклої і липи дрібнолистої показано, що біологічна активність цього препарату, порівняно з нафтилоцтовою кислотою (НУК), що широко застосовується при вирощуванні садивного матеріалу, значно вища. Новий препарат не тільки активізує ростові процеси у рослин, але й збільшує вміст хлорофілу в листі. Проведено дослідження й інших екологічно безпечних і малотоксичних РРР для лісового господарства. Найбільш ефективними з випробуваних препаратів під час вирощування садивного матеріалу ялини були

фумар, крезацин та амбіол. У відкритому піщаному ґрунті при низькому рівні мінерального живлення ( $\text{NH}_4\text{-N}$ –0,8;  $\text{P}_2\text{O}_5$ –9,5;  $\text{K}_2\text{O}$ –2,6 мг/100 г ґрунту) та вмісту гумусу 2,9 % завдяки передпосівній обробці насіння зазначеними препаратами масові сходи з'явилися на 2–3 дні раніше, а ґрунтова схожість підвищилася на 5–9 %. Лінійні показники дослідних сіянців у кінці третього року вирощування перевищували показники контрольних на 19–38 %. Ще більшою була різниця у біомасі — 23–172 %. У випадку неможливості здійснення зазначеного прийому доцільно застосовувати позакореневу обробку сіянців у першій або другий рік вирощування водними розчинами фумару та крезацину в концентраціях  $1 \cdot 10^{-4}$  та  $1 \cdot 10^{-3}$ , амбіолу — від  $1 \cdot 10^{-5}$  до  $1 \cdot 10^{-3}$  %. В результаті цих заходів вихід стандартного садивного матеріалу підвищувався на 20–30 %. У результаті тривалого хімічного пресу на ґрунти, особливо при застосуванні невиправдано завищених доз гербіцидів, до яких ґрунтові мікроорганізми виявилися достатньо чутливими, з'явилися ознаки “стомлення ґрунту”, токсикозу та прогресуючого падіння його родючості, що призвело до зниження продуктивності виробництва садивного матеріалу в лісорозсадниках. Під впливом хімічних засобів різко скоротилася чисельність корисної мікрофлори, проте добре пристосувалися до цих умов її антагоністи, які продукують фітотоксичні речовини. Як міра протидії цим явищам виявлено достатньо високу результативність використання у лісорозсадниках комплексних препаратів на основі відселекційованих штамів ґрунтових мікроорганізмів (азотфіксувальних, фосфатмобілізуєчих, молочнокислих бактерій), а також синтетичних регуляторів росту. Ці препарати при передпосівній обробці насіння збагачують ґрунт біологічним азотом, сприяють накопиченню в ньому фосфору у доступній для рослин формі і, тим самим, поліпшенню їх азотного та фосфорного живлення. Крім того, вони стимулюють ріст та активність корисної ґрунтової мікрофлори, синтезують стимулюючі ріст речовини та вітаміни групи В; завдяки антагоністичним властивостям пригнічують розвиток патогенів, оздоровлюючи тим самим ґрунтовий біоценоз. Наприклад, на дерново-підзолистих ґрунтах одноразова обробка рослин біопрепаратами весною сприяє зменшенню чисельності та повному зникненню грибів родів *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, домінування яких при вирощуванні хвойних порід небажане, тому що вони спричиняють розвиток токсикозу ґрунту. Одночасно з пригніченням фітопатогенів зростає чисельність їх антагоністів, зокрема грибів, що активно руйнують целюлозу (*Dematium*, *Trichoderma*) та беруть участь у формуванні гумусу (*Alternaria*, *Cladosporium*, *Dematium*). Комплексні біопрепарати, до складу яких, поряд з азотфіксаторами і фосфатмобілізуєчими мікроорганізмами, входять штами бактерій, здатні активно синтезувати РРР, позитивно впливають на ґрунтові мікроорганізми і

рослини, в т.ч. сприяють поліпшенню ґрунтоутворюючого процесу. Таким чином, аналіз літературних даних із застосування в лісівництві препаратів РРР синтетичного і природного походження свідчить про перспективність цього технологічного заходу для одержання якісного садивного матеріалу деревних порід.

#### **Запитання для самоконтролю:**

1. Від яких факторів залежить фізіологічна дія фітогормонів та ефективність їх застосування?
2. Які процеси інтенсифікуються під впливом РРР?
3. Ознаки явища «Стомлення ґрунту».
4. Який вплив на ґрунтові мікроорганізми мають РРР?

### **Практична робота 12. Спектри функціональної активності основних біоагентів мікробіологічних препаратів. Стан та перспективи використання БАР у біологічному землеробстві.**

Розвиток інтенсивних технологій призвів до масового та необґрунтованого використання синтетичних хімічних засобів у сільськогосподарському виробництві. Використання синтетичних мінеральних добрив, пестицидів та інших хімічних засобів, значно полегшило працю та підвищило врожай сільськогосподарських культур, однак призвело до небезпечних наслідків, які пов'язані зі здоров'ям людей. Людство почало розуміти цю небезпеку вже на початку ХХ сторіччя. Інтенсивна хімізація сільськогосподарських угідь практично знищила мікрофлору та фауну ґрунтів – головних чинників родючості ґрунту. Крім того, внаслідок підвищення резистентності збудників хвороб і шкідників до дії пестицидів, ефективність останніх значно знижується, що потребує постійного збільшення їх кількості для досягнення бажаного результату.

На сьогодні природне землеробство – це поняття, яке об'єднує всі види альтернативного ведення сільського господарства: органічне; екологічне; біодинамічне; агрономічні технології з використанням аерокосмічного зондування та енергоінформаційних факторів; агрономічні технології з використанням мікробіопрепаратів та біологічного захисту рослин; агрономічні технології з використанням вермикомпостів, сидеральних культур, гумінових препаратів; інші технології, які не використовують синтетичних мінеральних добрив, пестицидів, ГМО.

Враховуючи мету природного землеробства щодо підвищення біологічної активності ґрунту, виробниками використовуються біологічні препарати, застосування яких має певні особливості:

1. Захист рослин базується на попереджувальних заходах: відбір видів і сортів рослин стійких до хвороб і шкідників, впровадження сівозміни, механічні та фізичні методи, використання природних ворогів і шкідників.

2. Живлення рослин здійснюється через ґрунтову екосистему. Відходи та побічна продукція рослинного й тваринного походження переробляється для подальшого живлення рослин. Використання добрив та не відновлюваних джерел мінімізоване.

3. Використання мікробіологічних препаратів для трансформації органічних решток, які є однією з ключових умов оптимізації властивостей і режимів ґрунту, зниження втрат азоту добрив, підвищення продуктивності сільськогосподарських культур.

На сьогодні всі біологічні препарати (засоби захисту рослин, добрива), які можна використовувати у природному землеробстві в Україні, можна поділити на групи:

1. Визначені Кодексом Аліментаріус «Органічні харчові продукти».

2. Зазначені у Переліку пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні за погодженням з Міністерством аграрної політики та продовольства України.

3. Дозволених в органічному виробництві сертифікаційними органами ІМО (Швейцарія) та Органік Стандарт (Україна).

4. Інші, не віднесені до попередніх груп.

Найголовнішим і найавторитетнішим серед зазначених інституцій в природному землеробстві є Кодекс Аліментаріус «Органічні харчові продукти», який було прийнято у 1999 р. Ним встановлено правила органічного виробництва на стадії вирощування продукції, її підготовки, зберігання, транспортування та збуту, містяться вказівки щодо використання загальноприйнятих дозволених речовин для удобрення та кондиціонування ґрунту, боротьби з шкідниками та хворобами, харчових і технологічних добавок.

Перелік пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні, підготовлений спеціалістами відділу контролю за обігом пестицидів та агрохімікатів Департаменту екологічної безпеки Міністерства екології та природних ресурсів України та погоджений з Міністерством аграрної політики та продовольства України. Державні дослідження препаратів проводять упродовж двох повних вегетаційних періодів. Під час їхнього проведення науково-дослідні установи, підприємства й організації дають токсиколого-гігієнічну оцінку



препарату та визначення оптимальних умов його застосування, розробляються потрібні гігієнічні нормативи і регламенти: під час польових випробувань – тимчасові, виробничих випробувань – постійні, а також розробляють максимально допустимі рівні наявності в кормах, гранично допустимі або орієнтовно допустимі рівні у водоймищах рибогосподарського призначення, гранично допустимі концентрації у кормах бджіл.

За наявності позитивних результатів експертиз і рекомендацій науково-експертної ради Міністерство екології та природних ресурсів України ухвалює рішення про реєстрацію препарату, який вноситься до «Державного реєстру пестицидів і агрохімікатів», а заявникові видається посвідчення про державну реєстрацію препарату. ТОВ «Органік стандарт» (перший український сертифікаційний орган з органічного виробництва) розроблено власний перелік засобів захисту рослин і добрив для органічного виробництва, дозволених для використання в Україні відповідно до Постанови Ради ЄС № 834/2007. На сьогодні, компанія здійснює сертифікацію у всіх регіонах України та Республіці Білорусь, проводить інспекційні роботи в Росії, Грузії, Вірменії та Узбекистані в партнерстві з Інститутом ринкової екології (ІМО, Швейцарія).

При цьому пропонується наступна класифікація біологічних засобів:

Категорія I – всі засоби власного виробництва (наприклад, гній), витяжки з трав (за виключенням тютюну), придбані моноінгредієнтні добрива (наприклад, кам'яне борошно) (за виключенням курячого посліду, свинячого гною, водоростей) та всі сертифіковані засоби відповідно до вимог органічного виробництва (наприклад, ІМО).

Категорія II – всі придбані багатоінгредієнтні засоби, курячий послід, свинячий гній, продукція з водоростей, мікродобрива, компостовані або ферментовані домашні відходи та відходи виробництва грибів, усі засоби захисту рослин і всі засоби післязбиральної обробки (наприклад, газация, миття фруктів).

Також на сьогодні науково-дослідними установами та виробничими підприємствами створено значну кількість біологічних препаратів, застосування яких дозволяє за невеликих фінансових затрат цілеспрямовано зорієнтувати перебіг окремих процесів, важливих для розвитку рослин і формування родючості ґрунтів. До таких перспективних виробників належать: Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААНУ, Національний науковий центр «Інститут землеробства НААН», ТОВ «Мінераліс Україна», ТОВ «Центр Біотехніка», ТОВ «Торговий дім «СИЛА ЖИТТЯ», ТОВ «Аншан», ТОВ ТД «Ензим-Агро» та ін.

Таким чином, на сьогодні розвиток природного землеробства в Україні стимулює виробників засобів захисту рослин та добрив до виробництва біологічних препаратів. Отже, виробники екологічно безпечної

сільськогосподарської продукції нині мають достатній вибір біологічних засобів для удобрення ґрунту та захисту рослин, що забезпечують отримання високоякісної продукції та прибутковості діяльності аграріїв. А ті сільськогосподарські виробники, які дотримуються традиційних технологій, мають змогу експериментувати з альтернативними технологіями виробництва, поліпшуючи структуру ґрунтів, якість продукції, а відтак і власний фінансовий стан.

### **Запитання для самоконтролю:**

1. Які основні принципи природного землеробства?
2. Які особливості використання біологічних препаратів?
3. Які умови та перелік необхідних заходів для дозволу на використання препаратів захисту рослин в Україні?
4. На які категорії поділяються біологічні засоби захисту рослин?

### **Практична робота № 13.**

#### **Біологічно активні речовини лікарських рослин.**

Застосування лікарських рослин в практиці обумовлено наявністю в їх складі біологічно активних речовин, які при введенні в організм навіть у дуже малих кількостях викликають певний фізіологічний ефект. Ці активні речовини синтезуються самими рослинами з неорганічних мінеральних речовин ґрунту, води, з вуглекислого газу повітря. Синтез здійснюється рослинами під впливом світлової енергії. Відомо кілька груп активних речовин рослин: алкалоїди, глікозиди, дубильні речовини, сапоніни, флавоноїди, різні органічні кислоти, вітаміни, жирні та ефірні олії, мікроелементи та ін. Діючі речовини зазвичай накопичуються тільки в певних органах рослини, причому їх кількість, а отже, і фізіологічний ефект впливу на організм коливаються. У різних географічних зонах одне і те ж рослина може містити різні кількості діючих речовин. Залежить це від кліматичних умов, ґрунтового складу, атажності, висоти розташування місцевості над рівнем моря і ряду інших чинників. Велику роль в накопиченні діючих речовин в рослині грає фаза вегетації або фаза розвитку, тому рослини слід заготовляти в певні фази вегетації. Лікарська сировина, зібрана в інші терміни, може надати менш ефективне фізіологічний вплив на організм. Наведемо найбільш важливі біологічно активні речовини рослин.

Алкалоїди - складні органічні речовини, що містять азот і утворюють при

з'єднанні з кислотами солі, які добре розчиняються у воді. Більшість алкалоїдів - кристалічні речовини. У рослинах вони зазвичай знаходяться у вигляді солей, різних органічних кислот (яблучної, щавлевої, лимонної та ін.) - від слідів до 2-3%. Зміст їх в одному і тому ж рослині залежить від пори року і фази розвитку. Їх мало в молодому рослині, потім кількість їх збільшується, досягаючи свого максимуму в момент цвітіння, а потім знову іде на спад. Кліматичні умови грають важливу роль в процесі накопичення в рослинах алкалоїдів. Суворий клімат півночі мало сприяє утворенню алкалоїдів, і тому флора тундри бідна такими рослинами. У різних видах рослин алкалоїди накопичуються нерівномірно. Особливо багаті цими речовинами представники сімейства пасльонових і макових, у хвойних їх майже немає. Отруйність багатьох рослин найчастіше обумовлена наявністю алкалоїдів, які в малих кількостях надають лікувальний ефект. Перший алкалоїд був отриманий з опійного маку - морфін. Потім з різних рослин були виділені високоактивні, що широко застосовуються алкалоїди - атропін, ехінопсин, хінін, пілокарпін, стрихнін, кокаїн, берберин, резерпін. Спектр дії алкалоїдів надзвичайно широкий. Схематично його можна представити в такому вигляді: стимулюючий вплив на центральну нервову систему, гіпотензивну дію, судинозвужувальну і судинорозширювальний вплив на серцево-судинну систему, дія в області закінчень вегетативних нервів, функціональну діяльність м'язової системи і т. п. Цінними алкалоїдоносними рослинами є беладона, дурман, секуріне-га, ефедра, пілокарпус, чай і багато інших.

Глікозиди - складні безазотисті органічні сполуки. При гідролізі вони розпадаються на цукристу частину (глюкозу, рамнозу, галактозу та ін.) - глікон і несахаристую - аглікон або генії. Дія глікозидів в основному визначається їх несахаристою частиною. У чистому вигляді глікозиди звичайно являють собою кристалічні, легкорозчинні у воді і спирті речовини гіркового смаку. При зберіганні вони швидко руйнуються ферментами самих рослин, під дією високих температур, кислот, лугів та інших несприятливих чинників. Тому при заготівлі рослин, що містять глікозиди, необхідно дотримуватися всіх правил збору, сушіння та зберігання. Враховуючи нестійкість глікозидів, їх зазвичай використовують не в чистому вигляді, а застосовують рослини або витяги з них. Винятки становлять серцеві глікозиди: строфантин, ерізімін, глікозиди наперстянки та ін..

Антраглікозиди надають проносне і жовчогінну дію. Вони містяться в корі крушини ламкої, плодах крушини проносне, коренях ревеню, листі сени і сабуру. У полину, тирлич, кульбабу, золототисячника, та інших рослинах є глікозиди дуже гіркі на смак. Їх використовують як гіркоти, які стимулюють секреторну функцію шлунково-кишкового тракту для поліпшення травлення.

Один з різновидів глікозидів - сапоніни. При гідролізі вони розпадаються на вуглеводну частину і аглікон, званий сапогеніном. Сапоніни добре розчиняються у воді і спирті, їх водні розчини при збовтуванні утворюють стійку (типу мильною) піну. Вони володіють широким спектром фармакологічної активності, на практиці їх застосовують як відхаркувальні (термопсис, синюха, первоцвіт, коріння істода), сечогінні (нирковий чай), жовчогінні (трава звіробою) і тонізуючі засоби. Багато хто з них сприятливо впливають на серцево-судинну систему, ефективні при атеросклерозі судин і ін..

Фенольні сполуки та їх глікозиди-одні з найбільш біологічно активних речовин рослин. Містять ароматичні кільця з гідроксильною групою та їх похідні. Рослинні фенольні сполуки - надзвичайно строката група органічних сполук, досить неоднорідна за хімічною будовою. До них відносять прості феноли, фла-воноїди і їх глікозиди, кумарини (і їх глікозиди), дубильні речовини, лігнано та ін. Багато рослинні фенольні сполуки виявляють найрізноманітнішу фармакологічну активність. Прості феноли в рослинах зустрічаються рідко. Вони виявлені в голках і шишках сосни звичайної, чорній смородині та ін. Феноли отруйні. У малих дозах вони діють обезболивающе, обеззаражуюче і протизапально; застосовують їх при захворюваннях органів дихання.

Флавоноїди (флаволи, флавонони, ксантініни та ін.) широко поширені в рослинному світі. Вони грають важливу роль в житті рослин - беруть участь у складних окисно-відновних процесах тканинного дихання. У рослинах вони зустрічаються в глікозидірованій формі або у вільному стані. Виділені в чистому вигляді, флавоноїди являють собою кристалічні речовини різного забарвлення: жовті, оранжево-червоні, рідше безбарвні. Залежно від хімічної структури вони можуть розчинятися у воді або органічних розчинниках. Глікозидіровані форми флавоноїдів в якості цукрового компонента найчастіше містять моносахариди (глюкоза, галактоза, рамноза та ін.), рідше - дисахариди (рутіноза, софорс-за), а в якості аглікона - похідні а-пірану (катехіни, антоціаніди тощо) і 7-Пірона (флаволи, ізофлаволи, флаволи-ли та ін.). Флавоноїди мають високу біологічну активність і широким спектром фармакологічної дії. Так, ряд флавоноїдних глікозидів характеризується Р-вітамінною активністю і підвищує міцність стінок капілярів, бере участь в окисно-відновних процесах, сприяє розслабленню спазмів судин, загоєнню ран, має місцевим протизапальною, терпкою і спазмолітичну дію. Флавоноїди безсмертника, м'яти перцевої, шипшини травневого, ромашки аптечної, пижма звичайного діють холе-ретичні, а їхні препарати застосовують при захворюваннях печінки і жовчних шляхів. Флавоноїди звіробою звичайного,

глоду застосовують при серцево-судинної патології, а горця перцевого, пташиного і почечуйного - як діуретичні і кровоспинні засоби.

Дубильні речовини, або таніди - неотруйні, безазотистих, ароматичні сполуки, добре розчинні у воді і спирті, з характерним терпким смаком. Зустрічаються вони майже у всіх рослинах; містяться головним чином в корі і деревині дерев і чагарників, в надземних частинах трав'янистих багаторічних рослин. Загальна кількість танідів в рослинах може досягати 10-30%. Рослини, що містять таніди (кровохлебка, мучниця, черемха, кінський щавель, кора дуба та ін.), застосовують всередину при шлунково-кишкових розладах, при отруєнні важкими металами або алкалоїдами, зовнішньо як в'яжучі, кровоспинні і бактерицидні препарати.

Кумарини - природні сполуки, в основі будови яких лежить циклізовані орто-оксикоричні кислота (бензол-а-пірон). У чистому вигляді це безбарвні запавні кристали. У рослинах вони знаходяться в чистому вигляді або в з'єднаннях з цукром - у формі глікозидів. В даний час відомі сотні похідних кумарину. Кількість їх в різних видах рослин варіює в межах 0,2 - 5%, іноді до 10%. Найчастіше їх знаходять у коренях і плодах рослин сімейства бобових, зонтичних, рутових та ін У практиці в основному застосовують препарати, які стосуються фурукумарі-нам, і спазмолітичні засоби. Крім того, вони володіють фотосенсибілізуючим, гіпотензивну та Р-вітамінним дією.

Лігнани містяться в коренях, листі, корі, деревині багатьох видів рослин (в ялівці обикйовенном, лопуха великому, в смолі подофілла щитовидного, камеді евкаліпта кулькового, насінні кунжуту індійського, в деревині рослин класу хвойні). Зустрічаються як у вільному вигляді, так і у формі глікозидів. Є фармакологічно активними сполуками. Так, лігнано, отримані з подофілла щитовидного, надають канцеролітичні дію; лігнано з кунжутного масла застосовують для лікування геморагічних діатезів і тромбопенії; як біогенні стимулятори використовують лігнано лимонника китайського, заманихи високою і елеутерококу колючого.

Ефірні масла - леткі, з сильним запахом речовини, що становлять суміші різних органічних сполук, що складаються головним чином з терпенових вуглеводнів та їх похідних. Отримують масла з рослин шляхом перегонки сировини з водяною парою. Вони знаходяться в різних частинах рослин: у квітках, листі, плодах, насінні, рідше в підземних частинах. Кількість ефірних масел у різних видів рослин коливається від ледь помітних слідів (0,001%) до 20%; найчастіше воно складає 2-3%. В даний час відомо близько 2500 видів запавних рослин, наприклад полин гіркий, м'ята перцева, валеріана лікарська, материнка звичайна, шавлія лікарська та ін..

Ефірні олії нестійкі, тому при заготівлі ефіроолійних рослин необхідно суворо дотримуватися правил збору, сушіння та зберігання. Застосування ефірних масел в практиці дуже різноманітно головним чином завдяки їх протизапальну, протимікробну і противірусну дію. Деякі з них впливають на серцево-судинну систему і ЦНС, мають стимулюючу, болезаспокійливу і проти-кашльові дією, знижують артеріальний тиск. Їх використовують також у парфумерній, хіміко-фармацевтичної промисловості, для зміни смаку і запаху ліків.

Смоли. За своїм складом вони близькі до ефірних масел. Це тверді або напіврідкі органічні сполуки складного хімічного складу, з характерним запахом. За консистенцією це густі рідини, клейкі на дотик. У рослинах вони знаходяться під умістищами - смоляних ходах, добувають їх допомогою надрізів. Смоли містяться в хвойних деревах, в бруньках берези, коренях ревеню та інших рослинах, мають певним фармакологічною дією, яке в основному проявляється бактерицидною і антигнільним дією. Так, смоли сосни входять до складу ранозагоювальний пластиру клеол, а бензойна смола має дезінфікуючу властивістю, нодофіллін застосовують як проносний засіб всередину.

Органічні кислоти (яблучна, лимонна, щавлева, саліцилова, оцтова та ін.) містяться в рослинах у значних кількостях як у вільному стані, так і у вигляді солей - в насінні, плодах, ягодах, коренях, листках і стеблах. Деякі органічні кислоти цілющі, інші представляють балластні речовини, легковидаленим із сировини при виготовленні лікарських препаратів. Ряд кислот активно бере участь в обміні речовин, збуджує секреторну активність слинних залоз, посилює виділення жовчі і панкреатичного соку, покращує травлення, має бактерицидні та іншими властивостями.

До кислот, які мають виражене фармакологічна дія, відносять валерианову і ізовалерианову, що зустрічаються в ефірному маслі валеріани, деревію, хмелю та інших рослин. Ненасичені ефірні кислоти (олеїнова, лінолева, ліноленова та ін.) сприяють зниженню рівня холестерину, що попереджає розвиток атеросклерозу. Лінолева кислота, наприклад, є в насінні льону, плодах обліпихи. Мінеральні солі неорганічних кислот знаходяться в рослинах у розчиненому стані або викристалізуються у вигляді оксалатів. Вони грають важливу роль в обміні речовин, утворенні ферментів, гормонів, кровотворенні, впливають на діяльність серця, збудливість нервової системи і м'язів, входять до складу кісток скелета. Цілий ряд захворювань пов'язаний з нестачею або надлишком в організмі того чи іншого мікроелементу, особливо в біогеохімічних провінціях.

Мікроелементи - біологічні каталізатори обмінних процесів в живих організмах. Вони входять до складу ферментів, активних

металоорганічних сполук, які надають каталітичну дію на багато біохімічні процеси, що протікають в організмі. До них відносять кобальт, мідь, нікель, цинк, марганець та ін. У рослинах вони містяться в мізерно малих кількостях. Баланс мікроелементів в організмі підтримується за рахунок надходження їх з кормом і водою. Так, в зерні пшениці є цинк, нікель, марганець, мідь, алюміній, сліди селену. Жито багата міддю і титаном. У картоплі міститься залізо, нікель, мідь, кобальт та ін, у чорній смородині і квасолі - молібден, в різних фруктово-ягідних соках - марганець, кобальт, нікель, цинк, залізо та ін..

Вітаміни - біологічно активні органічні речовини, необхідні для життєдіяльності організму. Відіграють важливу роль в обміні речовин, процесах засвоєння і використання організмом всіх поживних речовин, в захисних функціях різних органів і систем, регулюють процес засвоєння і використання основних харчових речовин - білків, жирів, вуглеводів. Організм потребує надходження ззовні близько 20 вітамінів, решта синтезуються у внутрішніх органах. Недолік надходження вітамінів з кормом призводить до порушення обміну речовин, погіршення стану нервової системи, викликає інші патологічні явища. Настає гіпо-або авітаміноз. Відомо близько 30 вітамінів. Це вітамін А і В і (тіамін), В 2 (рибофлавін), В 6 (піридоксин), В 12, В 15, Д, Е, F, К, Р (рутин), РР (нікотинова кислота), вітамін С (аскорбінова кислота) та ін. Багато хто з цих вітамінів є в лікарських рослинах.

Крім описаних фізіологічно активних речовин, у рослинах містяться також баластні речовини. До них відносять крохмаль, пектини, слизу, камеді, жирні олії та ін.. Крохмаль накопичується в клітинах майже всіх вищих рослин і є їх найважливішим резервним живильним углеводом, що складається з полісахаридів. При витяганні біологічно активних речовин з рослин крохмаль є баластом. Але сам по собі в розвареному вигляді (клейстер) володіє деякими фізіологічними властивостями, наприклад обволакиваючим при шлунково-кишкових захворюваннях. Рисовий крохмаль вживають як присипки.

Пектини - вуглеводні полімери, що складаються із залишків уранових кислот і моносахаридів. У присутності цукру і кислот вони здатні утворювати холодці, у фармації їх застосовують як допоміжні речовини при виготовленні деяких лікарських форм. Так, пектини з соняшнику використовують як основу деяких шлунково-кишкових препаратів.

Слизу і камеді. Слизу - безазотистих речовини різного хімічного складу, переважно полісахариди. Мають високу водоудерживаючої здатністю, при кип'ятінні з водою розбухають і утворюють студнеобразную масу. Слизу як обволакиваючі засоби застосовують всередину при шлунково-кишкових захворюваннях, кашлі, зовнішньо як пом'якшувальний. До а-м е д і

утворюються у деяких рослин при руйнуванні клітинних оболонок або їх хворобливому стані, рідше у здорових рослин як продукти нормального обміну речовин. Камеди ряду рослин проявляють певну фармакологічну дію. Так, камедь кореня солодки голої обумовлює її проносну дію, камедь трагаканта використовують при виготовленні деяких лікарських форм.

Жирні масла зазвичай накопичуються у великих кількостях в насінні. Наприклад, в лляному насінні масел понад 30%, в очищеному мигдалі 70%. У практиці масла використовують для приготування розчинів деяких лікарських препаратів (розчин камфори в олії), мазей, лініментів та ін, касторове масло - як проносний засіб і т. д.

Такі основні біологічно активні речовини, що знаходяться в лікарських рослинах і зумовлюють їх лікувальну властивість. Останнє часто пов'язано не з однією речовиною, а з кількома входять до складу рослини. Використання хімічно чистих препаратів нерідко не дає того лікувального ефекту, який отриманий від застосування самої рослини або суми його діючих речовин. Прикладом можуть служити наперстянка, шипшини та ін..

#### **Запитання для самоконтролю:**

1. Що таке алкалоїди і їх вмісті синтезування в рослинах?
2. Яка характеристика та вміст у рослинах фенольних сполук?
3. Характеристика дубильних речовин та кумарину?
4. Характеристика ефірних масел та ефірної олії?
5. Які речовини у рослинах відносяться до фізіологічно активних, а які до баластних речовин?

### **Практична робота № 14. Біологічно активні речовини рослинного походження з антибіотичними властивостями.**

Застосування рослин для лікування численних недуг людини почалося з незапам'ятної давнини. Ще Гіппократ був переконаний, що використовувати рослини потрібно в їх природньому стані, без жодних перетворень. Давньоримський лікар Гален радив подрібнювати рослини, виготовляти з них екстракти та настойки на спирті, оцті, що широко застосовуються і в наш час.

Незважаючи на бурхливий розвиток хімії і зростання кількості нових, дедалі ефективніших синтетичних лікарських препаратів, антибіотиків,



лікарські рослини продовжують займати значне місце в арсеналі лікувальних засобів.

Профілактика і лікування гнійно-септичних інфекцій надалі однією із складних і актуальних проблем сучасної медицини. Широке використання антибактеріальних препаратів не лише не виправдало покладених на них надій, але й створило ряд нових проблем, які потребують невідкладного вирішення. Це, насамперед, високі темпи набуття гноєтворною мікрофлорою антибіотикорезистентності. В основі цього процесу лежить безконтрольне і часто недостатньо аргументоване застосування антибіотиків у клінічній практиці.

До небажаних і в той же час поширених наслідків антибіотикотерапії відносяться алергічні реакції і прямий токсичний вплив антибактеріальних препаратів на макроорганізм, який розвивається у зв'язку з органотропною фармакодинамічною дією. Тому багато синтетичних протимікробних засобів не було впроваджено в клінічну практику, а частина з існуючих має досить обмежене застосування.

Таким чином, є всі підстави для пошуку нових джерел протимікробних засобів, одними з яких можуть бути екстракти з рослин. Особливість екстрактів із лікарських рослин полягає в тому, що їх біологічно активні речовини знаходяться у певному співвідношенні, що сприяє оптимальному впливу на організм людини. Деякі складові компоненти рослинних екстрактів за хімічною структурою подібні до фізіологічно активних речовин організму (гормонів, вітамінів, ферментів тощо). Тому такі природні ліки більш активно включаються в біохімічні процеси людського організму, ніж ліки синтетичні, що є чужими для організму. На відміну від традиційних антибактеріальних препаратів, більшість антибіотиків рослинного походження, крім протимікробної дії, спричиняють виражений позитивний вплив на мікроорганізм.

Фітонцидами були названі продуковані рослинами бактерицидні, фунгіцидні і протистоцидні речовини, що являються одним із факторів їх імунітету і відіграють роль у взаємовідносинах організмів у біоценозах. Велика кількість летких фітонцидів виділяються в атмосферу листяними і особливо хвойними деревами — декілька кілограмів за добу на площі 1га лісу. Ще в перші роки досліджень було встановлено, що наявність фітонцидів властива не якійсь конкретній групі рослин, а всьому рослинному світу.

Будь-який фітонцид володіє антибіотичними властивостями, але не кожен антибіотик ідентичний фітонциду окремої рослини.

Екологічний підхід до появи фітонцидів і препаратів з них (антибіотиків) дав можливість пояснити ряд питань, наприклад, чому пеніцилін менш токсичний для організму людини, ніж стрептоміцин.

З біологічної точки зору, лікування антибіотиками людини — це додавання до імунологічних можливостей організму людини властивостей рослин, що обумовлюють її імунітет. Тому фітонциди — не випадкове явище, це еволюційно вироблена властивість рослин.

Різний підхід до найменування антимікробних властивостей фітонцидів і екстрактів із рослин обумовлений тим, що при будь-якій екстракції можливі різноманітні зміни складу і структури речовин, які знаходяться в рослинах, у зв'язку з цим екстракти не завжди можуть містити природні продукти рослинного організму. Тим не менш, екстрагування є способом отримання стабільних антимікробних препаратів і відбору продуцентів антибіотиків.

Отже, рослини є перспективним джерелом для отримання протимікробних засобів. У зв'язку з цим важливе значення має наявність достатньої кількості лікарської рослинної сировини для їх виготовлення. Україна і, зокрема Прикарпаття та Карпати, завдяки своїм природно-кліматичним умовам є одним із регіонів Європи, багатих на екологічно чисті лікарські рослини.

Не вивченою на сьогоднішній день залишається дія біологічно активних речовин рослинного походження на умовно-патогенні Грам-позитивні та Грам-негативні мікроорганізми. Літературні дані свідчать про вивчення дії цих речовин стосовно широкого спектру видів різних бактерій, в тому числі і умовно-патогенних. Але в переважній більшості цих досліджень використовувалися колекційні штами перелічених бактерій. Вони протягом десятиліть культивуються в лабораторних умовах, без контакту з людським організмом, а тому характеризуються ослабленим патогенним потенціалом.

Як теоретичне, так і практичне значення представляє вивчення впливу біологічно активних речовин рослинного походження на умовно-патогенні мікроорганізми, виділені з клінічного матеріалу, передусім їх госпітальні штами, яким властива підвищена вірулентність, а також поліантибіотикорезистентність.

#### **Запитання для самоконтролю:**

- 1.** В чому полягає особливість екстрактів із лікарських рослин?
- 2.** Що таке фітонциди?
- 3.** Який найбільш ефективний спосіб отримання стабільних антимікробних препаратів і відбору продуцентів антибіотиків?
- 4.** В яких дослідженнях використовуються колекційні штами бактерій?

## Список літератури.

### *Базова*

1. Грицаєнко З.М., Пономаренко С.П., Карпенко В.П., Леонтюк І.Б. Біологічно активні речовини в рослинництві. – К.ЗАТ., «НІЧЛАВА», 2008. – 352 с.
5. Анішин Л.А., Пономаренко С.П., Грицаєнко З.М. Регулятори росту рослин . Рекомендації по застосуванню – К.: ДП МНТЦ «Агробіотех» С. 28–29, 2011.
6. Карпенко В.П., Притуляк Р.М., Грицаєнко З.М., Полторецький С.П. Біологічні основи інтегрованої дії гербіцидів і регуляторів росту рослин. Умань, «Сочінський». – 320 с., 2012.
8. Шувар І. На шляху до біологізації / І. Шувар // Агробізнес сьогодні. – 2011. – № 1–2. – С. 34–35.
9. Ткаленко Г. М. Мікробіологічний метод в інтегрованому захисті посівів сільськогосподарських культур / Г. М. Ткаленко // Карантин і захист рослин. – 2004. – № 11. – С. 27–28.
10. Старчевський І. П. Біологізація землеробства / І. П. Старчевський // Карантин і захист рослин. – 2004. – № 11. – С. 25–26.
11. Зубець М. В. Економічні аспекти реформування аграрно-промислового комплексу України / М. В. Зубець, М. Д. Безуглий. – К. : Аграр. наука, 2010. – 17с.
12. Тимчишин О. Ф. Продуктивність гречки залежно від технологічних прийомів вирощування в умовах Західного Лісостепу України / О. Ф. Тимчишин // Автореферат дис. на здобуття наук. ступеня канд. с.-г. наук : спец. 06.01.09. – «Рослинництво». – Київ, 2015 – 20 с.
15. Склянчук В. М. Вплив елементів біологізації землеробства на врожайність сільськогосподарських культур у Західному Поліссі / В. М. Склянчук, М. Д. Науменко // Збірник наукових праць ННЦ «Інститут землеробства НААН» (спецвипуск). – К. : ЕКМО, 2006. – Вип. 29. –С. 112–118.
17. Патица В. П. Біологічне землеробство як фактор сталого розвитку агроєкосистем / В. П. Патица // Матеріали міжнародної конференції «Сталий розвиток агроєкосистем». – Вінниця, 2002. – С. 5–9.
11. Елементи біологізації в рослинництві: рекомендації виробництву (монографія) / Карпенко В.П., Полторецький С.П., Притуляк Р.М., Заболотний О.І., Чернега А.О., Даценко А.А. та ін.; за ред. В.П. Карпенка.- Умань: Видавець «Сочінський М.М.», 2017. – 112 с.

### *Допоміжна*

2. Дудник А. В. Вплив біостимуляторів росту на біометрію рослин соняшнику в умовах Південного Степу України / А. В. Дудник, Л. В. Ястремська, А. В. Волошенюк // Вісник аграрної науки Причорномор'я. – 2008.– Вип. 1. — С. 130–136.
4. Векірчик К. Вплив регулятора росту Емістиму С на деякі фізіологічні процеси, ріст, розвиток і продуктивність сої культурної в умовах Тернопільської області / К. Векірчик, О. Конончук // Тези II Міжн. конф. [«Онтогенез рослин у природньому та трансформованому середовищі. Фізіолого – біохімічні та екологічні аспекти»], (Львів, 18–21 серпня 2004 р.). – Львів: вид-во «Сполом», 2004. – С. 137.
5. Мальцева Н. М. Вплив біологічно активних речовин та їх композицій на вміст фотосинтетичних пігментів у листках озимої пшениці в умовах дефіциту фосфору / Н. М. Мальцева // Вісник аграрної науки Причорномор'я. – 2008.– Вип. 1. — С. 130–136.
9. Патица В. П. Морфологічні дослідження впливу біопрепаратів азотфіксувальних бактерій на формування елементів продуктивності озимої пшениці /

В. П. Патика, В. В. Гармашов, А. В. Калініченко // Фізіологія і біохімія культурних рослин. – 2004. – Т. 36. – № 3. – С. 239–249.

10. Шерстобоева О. В. Екологічні, економічні та соціальні передумови біологічного землеробства / О. В. Шерстобоева // Агроєкологічний журнал. – 2007. – № 1. – С. 67–70.

#### *Інформаційні ресурси.*

1. Грицаєнко З. М. Біологічно активні речовини в рослинництві / Грицаєнко З.М., Пономаренко С.П., Карпенко В.П., Леонтюк І.Б. – К., ЗАТ „НІЧЛАВА”, 2008. – 352 с <http://lib.udau.edu.ua/handle/123456789/1721>

2. Остапчук М. О. Використання біопрепаратів – перспективний напрямок вдосконалення агротехнологій / М.О. Остапчук, І.С. Поліщук, О.В. Мазур, А.М. Максимов. – Сільське господарство та лісівництво № 2, 2015. С.5 – 17.

[file:///C:/Users/user/Downloads/agf\\_2015\\_2\\_3.pdf](file:///C:/Users/user/Downloads/agf_2015_2_3.pdf)