

УДК 631.461:634.8

## РОЗВИТОК *ENTEROBACTER NIMIPRESSURALIS* 32-3 У РИЗОСФЕРІ РОСЛИН ВИНОГРАДУ

Н. М. Клименко

Інститут агроекології і природокористування НААН  
вул. Метрологічна, 12; м. Київ, 03143, Україна; e-mail: ninaklymenko@yandex.ru

*За використання штучно набутої антибіотикорезистентної ознаки встановлено, що фосфатмобілізувальна бактерія E. nimipressuralis 32-3 здатна приживатися в ризосфері рослин винограду. Здатність до розвитку в корневих сферах рослин пояснює позитивний вплив бактерії на продуктивність винограду.*

Ключові слова: *E. nimipressuralis 32-3, виноград, ризосфера, антибіотико-резистентні бактерії.*

Загальновідомо, що мікробні препарати, які застосовуються при вирощуванні різних сільськогосподарських культур, мають низку корисних властивостей. По-перше, вони є екологічно безпечними для навколишнього середовища та людини, по-друге — мають здатність поліпшувати мінеральне живлення рослин, покращувати їх ріст та урожайність. Крім того, бактеріальні штами, що є основою біопрепаратів, позитивно впливають на формування угруповань мікроорганізмів у ґрунті [1; 2]. Проте ефективність застосування препаратів залежить від здатності бактеріальних штамів приживатися в ризосфері рослин.

Одним із перспективних мікробних препаратів, створених на основі фосфатмобілізувальної бактерії, є Фосфоентерин. Дослідження, проведені низкою авторів, свідчать, що штам-основа цього препарату (*Enterobacter nimipressuralis* 32-3) здатний приживатися в ризосфері зернових та овочевих культур [3–5]. Проте здатність цієї бактерії до росту та розвитку в прикорневих сферах винограду до цього часу не вивчалась. У зв'язку з цим метою нашої роботи було вивчення приживаності *E. nimipressuralis* 32-3 у ризосфері рослин винограду.

**Матеріали й методи.** Дослідження проводили у вегетаційному досліді з виноградом сорту Мускат білий на підщепі Шасла × Берландієрі 41 Б. Тривалість досліду становила 70 діб. Приживаність *E. nimipressuralis* 32-3 у ризосфері винограду вивчали за допомогою його стрептоміцин-, ампіцилін- та кана-

міцин-резистентних мутантів. Антибіотико-резистентні мутанти штаму отримували за методикою Зібальського [6]. Кінцеві концентрації антибіотиків у живильному середовищі, що не стримували ріст досліджуваної бактерії, становили 1000 од./мл стрептоміцину, 100 од./мл ампіциліну та канаміцину.

Кореневу систему винограду обробляли суспензією добової культури мікроорганізмів (10,2–11,5 млн. КУО/мл) у кількості 6 мл на кожен саджанець. Рослини висаджували у посудини місткістю 6 л, заповнені лучно-алювіальним карбонатним ґрунтом. Основні характеристики ґрунту: запаси гумусу 1,5–2,2 %; вміст рухомого азоту 11–18 мг/кг ґрунту, фосфору — 32–38 мг/кг, калію — 260–430 мг/кг; реакція ґрунтового розчину (рН) 8,2–8,5; вміст карбонатів — 15–37 %; вміст активного вапна — 10–15 %. Дані показники ґрунту є оптимальними для вирощування винограду. Повторність дослідів 6-разова.

Чисельність бактеріальних клітин мутантів у ризосфері рослин визначали методом глибинного посіву певних розведень ґрунтової суспензії на живильне середовище (глюкозо-аспарагіновий агар) з додаванням стрептоміцину 1000 од./мл, ампіциліну та канаміцину — по 100 од./мл, повторність 5-разова. У контролі наведено чисельність бактерій, природно стійких до дії антибіотиків. Зразки ґрунту для цього варіанту відбирали в ризосфері небактеризованих рослин.

**Результати та їх обговорення.** Проведені дослідження показали, що чисельність

стрептоміцин-резистентного мутанту *E. nimipressuralis* 32-3 на 14-у добу дослідження становила 9,01 млн. КУО/г сух. ґрунту (рис. 1). Через 28 та 42 доби його кількість знизилася до 8,61 та 8,39 млн. відповідно, тобто трималася приблизно на одному рівні. Проте на 56-у добу від закладення дослідження кількість КУО отриманого мутанту становила 7,03 млн., а на 70-у добу знизилася більш ніж у півтора рази — до 3,85 млн.

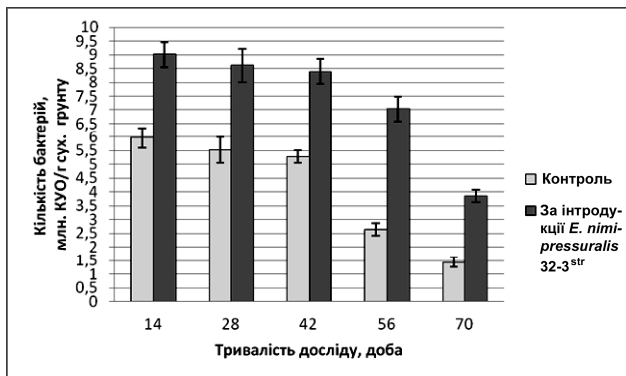


Рис. 1. Чисельність стрептоміцин-резистентних мікроорганізмів у ризосфері рослин винограду.

Упродовж експерименту відмічено, що динаміка чисельності бактерій, які природно стійкі до дії стрептоміцину (контрольний варіант), була суттєво нижчою за кількість клітин *E. nimipressuralis* 32-3<sup>str</sup>. Так, чисельність бактерій у контролі впродовж 14–42 діб поступово знижувалася з 5,97 до 5,52 та 5,28 млн. КУО/г сух. ґрунту відповідно. На 56-у добу кількість мікроорганізмів, стійких до стрептоміцину, знизилася до 2,64 млн., а наприкінці дослідження становила лише 1,44 млн. КУО.

Подібна тенденція до поступового зниження чисельності *E. nimipressuralis* 32-3 упродовж періоду дослідження відмічена і для ампіцилін-резистентного мутанту цієї бактерії (рис. 2). Так, на 14-у добу кількість КУО *E. nimipressuralis* 32-3<sup>amp</sup> становила 8,05 млн. Через 28 та 42 доби кількість бактерій, стійких до ампіциліну, складала 7,84 та 7,65 млн. КУО/г сух. ґрунту відповідно. На 56-у добу дослідження відмічено зниження числа ампіцилін-резистентних бактерій у ризосферному ґрунті до 6,53 млн. Наприкінці експерименту, тобто на 70-у добу, відмічено помітне зниження чисельності мікроорганізмів порівняно з першим строком відбору — до 3,36 млн. КУО/г сух. ґрунту.

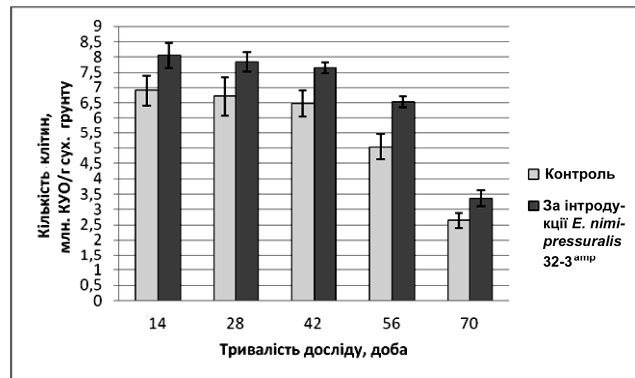


Рис. 2. Чисельність ампіцилін-резистентних бактерій у ризосфері рослин винограду.

Чисельність природно стійких до дії ампіциліну мікроорганізмів (контроль) упродовж 14-ї, 28-ї та 42-ї доби поступово знижувалася і становила 6,91; 6,72 та 6,48 млн. КУО/г сух. ґрунту відповідно. На 56-у добу дослідження кількість резистентних бактерій сягала 5,04, а на 70-у добу — 2,64 млн. КУО.

При визначенні приживаності канаміцин-резистентного мутанту у ризосфері рослин винограду виявлено найбільшу чисельність бактерій у ризосферному ґрунті порівняно з показниками обліку резистентних до стрептоміцину та ампіциліну мутантів (рис. 3). Так, на 14-у добу дослідження кількість канаміцин-резистентного мутанту становила 10,54 млн. КУО/г сух. ґрунту.

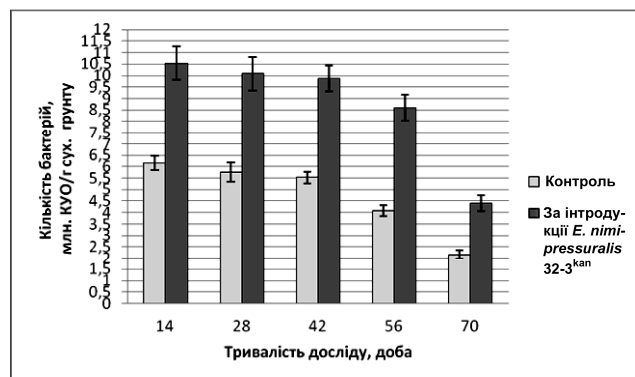


Рис. 3. Чисельність канаміцин-резистентних бактерій у ризосферному ґрунті рослин винограду.

На 28-у добу цей показник становив 10,08 млн. КУО. Упродовж 42-ї, 56-ї та 70-ї доби чисельність канаміцин-резистентних мікроорганізмів дещо знизилася: до 9,87; 8,61 та 4,41 млн. КУО відповідно. Для мутантів, стійких до канаміцину, зберігається та сама тенденція, що і для попередньо представлених, а саме: повільне зниження їх чи-

сельності у ризосферному ґрунті винограду впродовж досліджу.

Чисельність бактерій, які природно стійкі до впливу канаміцину, також поступово знижувалась упродовж всього періоду дослідження. Так, на 14-у та 28-у добу вона становила 6,16 та 5,76 млн. КУО відповідно. На 42-у добу їх чисельність знизилась до 5,52, а через два тижні (на 56-у добу) вона вже складала 4,08 млн. КУО/г сух. ґрунту. На 70-у добу досліджу виявлено, що чисельність бактерій, стійких до дії канаміцину, знизилась до 2,16 млн. КУО.

Таким чином, проведені дослідження показують, що *E. nimipressuralis* 32-3 має здатність до приживаності в ризосфері винограду і може адаптуватися та існувати на поверхні коренів винограду. Ці результати пояснюють дані, що отримано нами в польовому досліді, а саме: використання Фосфоентерину має позитивний вплив на ріст, розвиток та врожайність винограду [7].

1. Мікробні препарати у землеробстві. Теорія і практика : монографія / [В. В. Волкогон, О. В. Надкернична, Т. М. Ковалевська та ін.] ; за ред. В. В. Волкогона. — К. : Аграрна наука, 2006. — 312 с.

## РАЗВИТИЕ ENTEROBACTER NIMIPRESSURALIS 32-3 В РИЗОСФЕРЕ РАСТЕНИЙ ВИНОГРАДА

**Н. М. Клименко**

Институт агроэкологии и природопользования НААН, г. Киев

*При использовании искусственно приобретенной устойчивости к антибиоткам показано, что фосфатмобилизирующая бактерия *E. nimipressuralis* 32-3 приживается в ризосфере растений винограда. Способность к развитию в корневых сферах растений объясняет положительное влияние бактерии на продуктивность винограда.*

Ключевые слова: *E. nimipressuralis* 32-3, виноград, ризосфера, антибиотико-резистентные бактерии.

2. Патица В. П. Біологічний азот / В. П. Патица, С. Я. Коць, В. В. Волкогон. — К. : Світ, 2003. — 424 с.

3. Баранська М. І. Здатність штаму *Enterobacter nimipressuralis* 32-3 приживатися у ризосфері ярих зернових / Баранська М. І. // Сільськогосподарська мікробіологія : міжвід. темат. наук. зб. — Чернігів, 2008. — Вип. 7. — С. 101–108.

4. Ключенко В. В. Розмноження бактерії *Enterobacter nimipressuralis* 32-3 в ризосфері озимої пшениці / Ключенко В. В., Баранська М. І., Чайковська Л. О. // Сільськогосподарська мікробіологія : міжвід. темат. наук. зб. — Чернігів, 2010. — Вип. 12. — С. 87–92.

5. Мельничук Т. М. Інтродукція фосфатмобілізівного штаму *Enterobacter nimipressuralis* 32-3 у ризосферу капусти білоголової / Т. М. Мельничук, Т. Ю. Пархоменко, Л. М. Татарин // Фосфор і калій у землеробстві. Проблеми мікробіологічної мобілізації. — Чернігів–Харків, 2004. — С. 81–85.

6. Методы общей бактериологии / под ред. Ф. Герхардта и др. ; пер. с англ. : в 3 т. — М. : Мир, 1983–1984. — Т. 2. — 1984. — С. 29–31.

7. Новое в технологии выращивания привитого винограда / [Н. Н. Клименко, О. Е. Клименко, Н. И. Клименко и др.] // Виноградарство і виноробство : міжвід. темат. наук. зб. — Одеса : ІВіВ ім. В. Є. Таїрова, 2013. — Вип. 50. — С. 107–111.

## DEVELOPMENT OF ENTEROBACTER NIMIPRESSURALIS 32-3 IN THE RHIZOSPHERE OF GRAPES

**N. M. Klymenko**

Institute of Agroecology and Environmental Management, NAAS, Kyiv

*It was shown that phosphorous mobilizing bacterium *E. nimipressuralis* 32-3 can take roots in the rhizosphere of grapes due to the artificially acquired resistance to antibiotics. The ability to progress into the root area of plants explains the positive effect of bacteria on the productivity of grapes.*

Key words: *E. nimipressuralis* 32-3, grapes, rhizosphere, antibiotic-resistant bacteria.