

**РОЗВИТОК АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНИХ ФОРМ
ENTEROBACTER NIMIPRESSURALIS 32-3
У РИЗОСФЕРІ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ**

¹Ключенко В.В., ²Баранська М.І., ²Чайковська Л.О.

¹Відокремлений підрозділ Національного університету біоресурсів і природокористування України “Кримський агропромисловий коледж”

²Південна дослідна станція Інституту сільськогосподарської мікробіології НААН України,
вул. К. Маркса, 107, смт. Гвардійське, АР Крим, 97513
e-mail: ludachaika@mail.ru

*У вегетаційних дослідях при вирощуванні пшениці озимої сорту Фантазія одеська досліджено можливість розвитку активної фосфатмобілізуючої бактерії *Enterobacter nimipressuralis* 32-3 у ризосферному ґрунті рослин. Показано, що чисельність антибіотикорезистентних форм бактерії сягає 10^6 в 1 г ґрунту і вони можуть бути суттєвим чинником впливу на продуктивність культури.*

Ключові слова: *Enterobacter nimipressuralis* 32-3, ризосфера, пшениця озима.

В основі успішності такого агроприйому, як передпосівна інокуляція насіння мікробними препаратами, знаходиться принцип активного розмноження та метаболізму інокулянта (мікроорганізму, що нанесений на поверхню насіння) в ризосферному ґрунті рослин певного виду. Високий ступінь колонізації корневих сфер є запорукою ефективного функціонування інтродукованого штаму та його позитивної дії на ріст і розвиток рослин, а також урожайність сільськогосподарських культур.

У літературних джерелах наведено немало прикладів активного розвитку інтродукованих мікроорганізмів у корневих сферах рослин. Так, встановлено здатність представників роду *Bacillus* до інтенсивного розмноження на поверхні коренів капусти [1]. Крім того, досліджено приживаність клітин фосфатмобілізуючих бактерій *Achromobacter album* 1122 і *Paenibacillus polymyxa* KB (біоагентів препаратів Альбобактерину та Поліміксобактерину, відповідно) у ризосферному ґрунті рослин соняшнику і ріпаку [2]. Науковцями Південної дослідної станції Інституту

сільськогосподарської мікробіології НААН України проведено дослідження можливості інтродукції фосфатмобілізувального штаму *Enterobacter nimipressuralis* 32-3 у ризосферу капусти білоголової [3, 4] та зернових ярих культур ячменю і тритикале [5]. Показано, що *E. nimipressuralis* 32-3 активно розмножується в ризосферному ґрунті цих сільськогосподарських рослин.

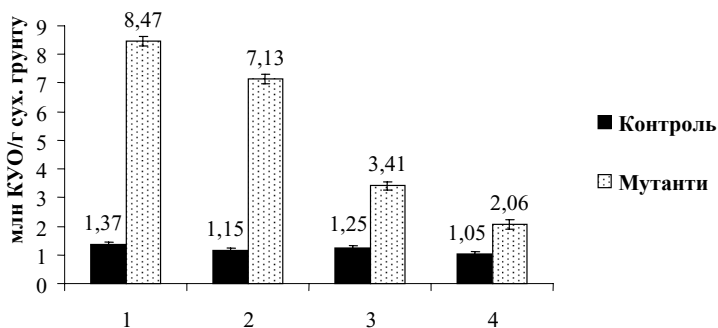
Мета наших досліджень полягала у визначенні здатності штаму *E. nimipressuralis* 32-3 до розмноження в ризосферному ґрунті рослин пшениці озимої сорту Фантазія одеська.

Матеріали і методи. Вивчення здатності *E. nimipressuralis* 32-3 приживатись у ризосфері рослин пшениці озимої сорту Фантазія одеська проводили в умовах вегетаційного дослідю. Рослини вирощували на чорноземі південному (вміст гумусу 2,5 %; рухомих форм: азоту – 5,3 мг/100 г, фосфору – 3,2 мг/100 г ґрунту). Тривалість дослідю 56 діб. Здатність до розвитку *E. nimipressuralis* 32-3 у зазначеній топологічній сфері визначали за використання стрептоміцин-, ампіцилін- та канаміцинрезистентних форм бактерії. З цією метою за використання методу Зібальського [6] отримували мутанти *E. nimipressuralis* 32-3, стійкі до антибіотиків: стрептоміцину в концентрації 1000 од./мл середовища, канаміцину і ампіциліну – по 100 од./мл. Насіння пшениці обробляли суспензією добової культури отриманих антибіотикостійких форм (13,8-15,6 млн клітин/мл) та висівали в посудини, заповнені чорноземом південним. За нашими розрахунками інокуляційне навантаження на одну насінину становило 10^5 - 10^6 клітин. Повторність дослідю 5-разова. Визначення чисельності бактерій (КУО) у ризосферному ґрунті проводили методом висіву відповідних розведень на поживному середовищі (МПА) з додаванням: стрептоміцину – 1000 од./мл, ампіциліну та канаміцину – по 100 од./мл, повторність 5-разова. Контролем слугував варіант, у якому не проводили передпосівну бактеризацію насіння: в ризосфері рослин цього варіанту враховували чисельність аборигенних бактерій, що стійкі до відповідних антибіотиків. Відбір зразків для аналізу проводили чотири рази за період вегетації – через кожні 14 діб. Вегетаційні дослідю проводили згідно загальноприйнятої методики [7].

Результати та їх обговорення. Як свідчать отримані результати, кількість КУО стрептоміцинрезистентних мутантів *E. nimipressuralis* 32-3 у ризосферному ґрунті інокульованих рослин пшениці сягала 8,5-7,1 млн КУО/г ґрунту в перший місяць

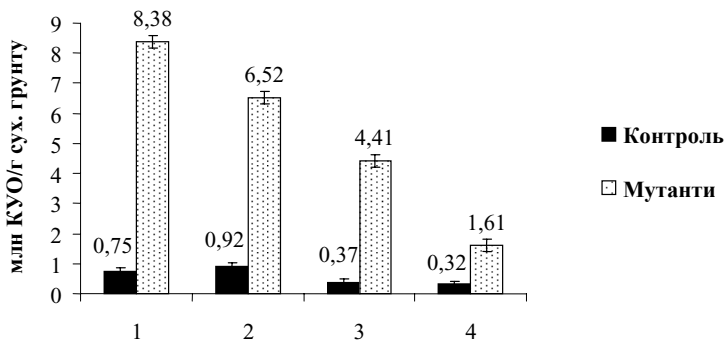
розвитку рослин (проти 1,4–1,2 млн КУО в контролі) і знижувалася до 2,1 млн КУО наприкінці другого місяця їх онтогенезу (рис. 1).

Подібні результати одержано і для канаміцинрезистентних мутантів *E. nimipressuralis* 32-3: їх кількість сягала 8,4-6,5 млн КУО/г сухого ґрунту в перший місяць онтогенезу рослин пшениці та знижувалася до 1,6 млн КУО на 56-у добу досліді (рис. 2). У той же час, чисельність бактерій, що природно резистентні до канаміцину (показники контролю) була значно меншою: коливалась упродовж досліді в межах 0,75-0,32 млн КУО/1 г ґрунту.



1 – 14-а доба досліді; 2 – 28-а доба досліді; 3 – 42-а доба досліді;
4 – 56-а доба досліді.

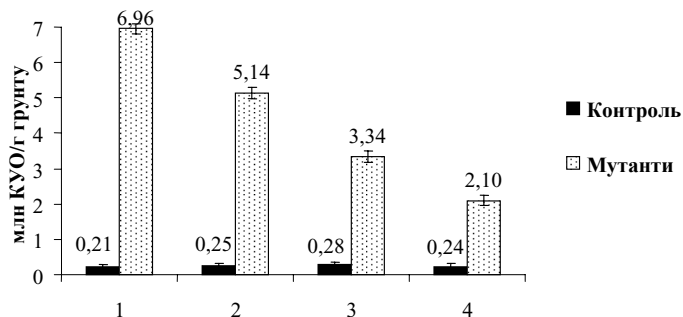
Рис. 1. Динаміка чисельності стрептоміцинрезистентних форм *E. nimipressuralis* 32-3 у ризосферному ґрунті рослин пшениці озимої сорту Фантазія одеська.



1 – 14-а доба досліді; 2 – 28-а доба досліді; 3 – 42-а доба досліді;
4 – 56-а доба досліді.

Рис. 2. Динаміка чисельності канаміцинрезистентних форм штаму *E. nimipressuralis* 32-3 у ризосферному ґрунті рослин пшениці озимої сорту Фантазія одеська

Не менш переконливими є результати дослідження ступеню приживання в ризосфері пшениці ампіцилінрезистентних форм *E. nimipressuralis* 32-3 (рис. 3). Так, їх кількість сягала майже 7 млн КУО/г ґрунту на 14-у добу досліді, знижувалася до 5 млн КУО – на 28-у, та до 3,3 і 2,1 млн КУО – на 42-у і 56-у добу, відповідно. В той же час, чисельність фонових мікроорганізмів, що стійкі до дії ампіциліну, практично не змінювалася впродовж часу проведення дослідів і знаходилася у межах 0,21-0,28 млн КУО/г сухого ґрунту.



1 – 14-а доба досліді; 2 – 28-а доба досліді; 3 – 42-а доба досліді;
4 – 56-а доба досліді.

Рис. 3. Динаміка чисельності ампіцилінрезистентних форм штаму *E. nimipressuralis* 32-3 у ризосферному ґрунті рослин пшениці озимої сорту Фантазія одеська:

Отже, результати наших досліджень, що проведені за використання стрептоміцин-, ампіцилін- та канаміцинрезистентних мутантів *E. nimipressuralis* 32-3, свідчать про можливість розвитку штаму в ризосфері рослин пшениці озимої сорту Фантазія одеська. Безперечно, в польових умовах вирощування пшениці озимої абсолютні значення чисельності інтродукованої бактерії можуть відрізнятися від лабораторних, особливо з врахуванням впливу низьких зимових температур, проте здатність *E. nimipressuralis* 32-3 до розвитку в корневих сферах може принципово свідчити про значний потенціал продуктивності пшенично-бактеріальних асоціацій, сформованих за участю зазначеного штаму.

1. Пархоменко Т.Ю. Інтродукція штамів роду *Bacillus* в ризосферу капусти /Пархоменко Т.Ю. //Наук. записки Тернопільського нац. пед. ун-ту ім. Володимира Гнатюка. Сер. Біологія. – 2007. – № 2(32). – С. 101-103.

2. Усманова Г.О. Застосування альбобактерину і поліміксобакте-

рину на посівах ріпаку і соняшнику /Г.О. Усманова, В.П. Патика //Агрокол. журн. – 2003. – № 4. – С. 70-74.

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

4. Sherstoboev N.K. The methodical approach to abjection of strain *Pseudomonas fluorescens* П 10 and to studying of its colonized ability of plants *Brassica capitata* var. *alba* ligz. /Sherstoboev N.K., Melnichuk T.N. //Intern. sci. conf. “S.P. Kostychev and contemporary agricultural microbiology”. – Yalta, 2007. – С. 100.

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

6. Методы общей бактериологии /Под ред. Ф. Герхарда и др.; Пер. с англ. Е.Н. Кондратьевой, Л.В. Калакуцкого. – М.: Мир, 1984. – С. 29-31.

7. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.

РАЗВИТИЕ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫХ ФОРМ *ENTEROBACTER NIMIPRESSURALIS* 32-3 В РИЗОСФЕРЕ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ

¹Ключенко В.В., ²Баранская М.И., ²Чайковская Л.А.

¹Отдельное подразделение Национального университета биоресурсов и природопользования Украины “Крымский агропромышленный колледж”

²Южная опытная станция Института сельскохозяйственной микробиологии НААН Украины, пгт. Гвардейское

*В вегетационных опытах при выращивании пшеницы озимой сорта Фантазия одесская исследована возможность развития активной фосфатмобилизирующей бактерии *Enterobacter nimipressuralis* 32-3 в ризосферной почве растений. Показано, что численность антибиотикорезистентных форм бактерии достигает 10^6 в 1 г почвы и они могут быть существенным фактором влияния на продуктивность культуры.*

Ключевые слова: *Enterobacter nimipressuralis* 32-3, ризосфера, пшеница озимая.

DEVELOPMENT OF ANTIBIOTIC-RESISTENT FORMS OF *ENTEROBACTER NIMIPRESSURALIS* 32-3 IN THE RHIZOSPHERE OF WINTER WHEAT

¹Klyuchenko V.V., ²Baranska M.I., ²Chaikovska L.A.

¹Structural Unit of National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine “The Crimean Agroindustrial College”

²South Experimental Station of Institute of Agricultural Microbiology, NAAS of Ukraine, Gvardeyskoe

*The possibility of development of active phosphorous-mobilizing bacteria *Enterobacter nimipressuralis* 32-3 in rhizosphere of winter wheat plants (cult. *Fantasiya odesskaya*) was studied in green house experiments. It was shown that the number of antibiotic-resistant forms of bacteria reaches 10^6 in 1 g of soil and they can be a significant factor affecting crop productivity.*

Key words: *Enterobacter nimipressuralis* 32-3, rhizosphere, winter wheat.