

УДК 579.64:632.4

**Н. В. Ліманська, О. В. Басюл, Т. В. Суворова,
Г. В. Степанюк, В. О. Іваниця**

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна,
e-mail: limanska@onu.edu.ua

ЗДАТНІСТЬ *LACTOBACILLUS PLANTARUM* ОНУ 12 ДО ВИЖИВАННЯ В УМОВАХ ҐРУНТУ

Мета роботи: встановити тривалість збереження життєздатності бактерій *Lactobacillus plantarum* ОНУ 12 в умовах ґрунту. **Матеріали і методи.** Культуру бактерій *L. plantarum* ОНУ 12 КУО/мл вносили у чорноземний і торф'яний ґрунти у двох варіантах – без рослин та з тест-рослинами *Kalanchoe daigremontiana* Mill до досягнення концентрації 108 КУО/г. Через кожні чотири дні здійснювали контроль чисельності лактобацил шляхом висіву мікробіоти ґрунту на агаризоване середовище MRS та вивчення фено-типових ознак і подальшої ідентифікації методом полімеразної ланцюгової реакції. **Результати.** Лактобацили найдовше зберігали життєдіяльність у ризосфері рослин, які культивували у чорноземному ґрунті: на 44-й день експерименту їх чисельність становила $(2,8 \pm 0,4) \times 10^2$ КУО/г, у ґрунті без рослин зберігалися щонайменше 36 діб. У торф'яному ґрунті лактобацили виживали у найменший термін і не виявлялися після 32-ї доби, а у ризосфері рослин у торф'яному ґрунті – щонайменше 36 діб. **Висновок.** В залежності від ґрунту та присутності рослин лактобацили здатні зберігати життєздатність до 44 діб.

Ключові слова: молочнокислі бактерії, ґрунт, ризосфера, збереження життєздатності.

Перші відомості про успішне застосування лактобацил з метою покращення росту рослин були описані у 1980-х роках [9], але дотепер у науковій літературі зустрічається невелика кількість публікацій з цієї тематики [2; 3; 8; 10]. Наші дослідження, проведені впродовж останніх років, показали високий потенціал застосування молочнокислих бактерій у стимуляції росту рослин [11; 12]. Можливою причиною, через яку лактобацили не застосовуються широко в органічному землеробстві, є те, що ці мікроорганізми вимагають для росту багатих живильних середовищ. Через це терміни їх виживання у ґрунті та на поверхнях рослин залишаються дискусійними. Наші дослідження показали, що бактерії *Lactobacillus plantarum* можуть виживати на поверхнях тест-рослин (томати, каланхое, виноград) щонайменше протягом одного місяця [1], але залишилася не вивченою тривалість виживання їх у ґрунті. Noda et al. (2011) вказували на виживання лактобацил у польових умовах протягом двох місяців [10].

Метою роботи було встановити тривалість збереження життєздатності

© Н. В. Ліманська, О. В. Басюл, Т. В. Суворова, Г. В. Степанюк, В. О. Іваниця, 2019



бактерій *Lactobacillus plantarum* ОНУ 12 в умовах ґрунту.

Матеріали і методи дослідження

Для штучної інокуляції ґрунту використовували штам *L. plantarum* ОНУ 12 з колекції мікроорганізмів кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології ОНУ імені І. І. Мечникова. Наведений штам, за нашими попередніми дослідженнями, проявляє виражену фітостимулювальну активність [12].

Бактерії вирощували у рідкому середовищі MRS [5] протягом 24–30 год при 37 °С до досягнення концентрації 10⁹ КУО/мл.

Для штучної інокуляції використовували два типи ґрунтів: південний важко суглинковий малогумусний чорнозем, відібраний на польовій ділянці Одеської області, і придбаний комерційний ґрунт (Поліський, «Універсальний») з високим вмістом торфу. Перед дослідженнями ґрунти перевіряли на наявність лактобацил, для чого здійснювали посіви розведень ґрунту на середовище MRS. Молочнокислі бактерії у даному ґрунті виявлені не були.

У ґрунт вносили культуру лактобацил з концентрацією 10⁹ КУО/мл. Концентрацію бактерій вимірювали за допомогою спектрофотометра Biorad BioRadSmartSpec, США згідно з інструкцією виробника приладу (https://www.mbl.edu/jbpc/files/2014/05/Spectrophotometer_BioRad_SmartSpecPlus_UserManual.pdf). У 80 г ґрунту вносили 30 мл культури до досягнення концентрації лактобацил 10⁸ КУО/г та перемішували для повного зволоження ґрунту. Використовували два варіанти експерименту: в одному варіанті досліджували тривалість виживання у чорноземному і торф'яному ґрунтах без рослин, у другому варіанті досліджували терміни виживання у ризосфері молодих (3 місяці) тест-рослин каланхое *Kalanchoe daigremontiana* Mill.

Після внесення лактобацил інокульований ґрунт залишали у теплиці за температури 20–22 °С і 12 год освітлення. Проводили чотири незалежних експерименти з 5 повторами у кожному. Через кожні чотири доби 1 г відібраного ґрунту змішували з 10 мл стерильної дистильованої води і готували ряд серійних розведень. З кожного розведення здійснювали висів методом газону на середовище MRS. Лактобацили попередньо ідентифікували за морфологією колоній (дрібні, округлі, молочного кольору) та біохімічними властивостями (здатність до закислення рідкого середовища MRS). Для цього переносили біомасу з колоній, які нагадували колонії молочнокислих бактерій, у бульйон MRS, культивували 48 год і вимірювали рН культуральної рідини. Бактерії також забарвлювали за Грамом та проводили мікроскопування (x1540). З грам-позитивними паличками, зібраними у ланцюжки, такими, що закислюють середовище, проводили каталазну реакцію з використанням 2% перекису водню. Приналежність бактерій до роду *Lactobacillus* підтверджували методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). ДНК бактерій виділяли за допомогою тест-набору «ДНК-сорб» (АмпліСенс, Росія). Готували реакційні суміші наступного складу: 200 мМ дезоксинуклеозидтрифосфатів у суміші, 10x ПЛР буфер, що постачається з ферментом, 2 Од Таq-полімерази, 2,0 мМ MgSO₄ (АмпліСенс, Росія), 0,2 мМ кожного з праймерів та 2 мкл ДНК. Усі реактиви – фірми Fermentas (Литва).

Використовували праймери planFi pREV до видоспецифічних послідов-



ностей *L. plantarum* згідно з Torgiani et al. (2001) [14]. Розмір ампліконів – 318 п.н. [14]. Параметри ампліфікації: початкова денатурація 94 °С, 3 хв; 30 циклів денатурації при 94 °С, 1 хв, відпалювання праймерів – температура 56 °С – 1 хв, елонгації – 72 °С, 30 сек; заключна елонгація – 72 °С протягом 5 хв.

Електрофорез для аналізу продуктів ПЛР проводили у 1,5% агарозі, застосовуючи трисборатний буфер. Використовували маркери молекулярної маси 110, 147, 190, 242, 331, 404, 489, 501 п.о. (Fermentas, Литва). Фотографування гелів проводили за допомогою відеосистеми “GelDoc” (BioRad, США).

Середні значення та довірчий інтервал вираховували за допомогою пакету прикладних програм Excell.

Результати дослідження та їх обговорення

Проведені дослідження показали, що тривалість виживання лактобацил у ґрунті відрізнялася в залежності від типу ґрунту і наявності тест-рослин (Табл.).

Таблиця

Кількість лактобацил у ґрунті (КУО/г) після штучної інокуляції

Table

Amount of lactobacilli in soil (CFU/ml) after experimental inoculation

Доба	Чорнозем		Торф'яний ґрунт	
	ґрунт	ризосфера	ґрунт	ризосфера
1	$(4,2 \pm 0,4) \times 10^8$	$(2,8 \pm 0,8) \times 10^8$	$(3,8 \pm 0,5) \times 10^8$	$(3,5 \pm 0,2) \times 10^8$
4	$(2,3 \pm 0,2) \times 10^6$	$(4,5 \pm 0,6) \times 10^6$	$(2,3 \pm 0,2) \times 10^5$	$(3,3 \pm 0,4) \times 10^6$
8	$(1,7 \pm 0,3) \times 10^5$	$(8,9 \pm 0,5) \times 10^5$	$(8,4 \pm 0,2) \times 10^4$	$(1,1 \pm 0,3) \times 10^5$
12	$(7,1 \pm 0,5) \times 10^4$	$(4,2 \pm 0,3) \times 10^5$	$(5,2 \pm 0,3) \times 10^3$	$(8,3 \pm 0,4) \times 10^4$
16	$(1,3 \pm 0,2) \times 10^4$	$(1,2 \pm 0,5) \times 10^5$	$(4,5 \pm 0,6) \times 10^3$	$(1,5 \pm 0,3) \times 10^4$
20	$(2,4 \pm 0,8) \times 10^3$	$(5,3 \pm 0,4) \times 10^4$	$(4,0 \pm 0,3) \times 10^3$	$(7,8 \pm 0,3) \times 10^3$
24	$(1,3 \pm 0,1) \times 10^3$	$(3,1 \pm 0,2) \times 10^4$	$(3,2 \pm 0,7) \times 10^3$	$(5,6 \pm 0,4) \times 10^3$
28	$(1,1 \pm 0,3) \times 10^3$	$(2,2 \pm 0,1) \times 10^3$	$(2,5 \pm 0,2) \times 10^3$	$(2,5 \pm 0,4) \times 10^3$
32	$(6,1 \pm 0,4) \times 10^2$	$(7,3 \pm 0,2) \times 10^3$	$(6,5 \pm 0,5) \times 10^2$	$(7,1 \pm 0,3) \times 10^2$
36	$(4,3 \pm 0,3) \times 10^2$	$(4,5 \pm 0,6) \times 10^3$	0	$(1,4 \pm 0,5) \times 10^2$
40	0	$(3,3 \pm 0,3) \times 10^2$	0	0
44	0	$(2,8 \pm 0,4) \times 10^2$	0	0
48	0	0	0	0

Результати ідентифікації лактобацил за морфологічними і біохімічними властивостями було підтверджено методом ПЛР (Рис.).

Вже на четверту добу після інокуляції спостерігалася різниця у кількості життєздатних лактобацил у чорноземі, ризосфері у торф'яному ґрунті і торфі без рослин: в останньому випадку зменшення чисельності лактобацил було більш значним – на три порядки, з $(3,8 \pm 0,5) \times 10^8$ до $(2,3 \pm 0,2) \times 10^5$ КУО/мл (Табл.).



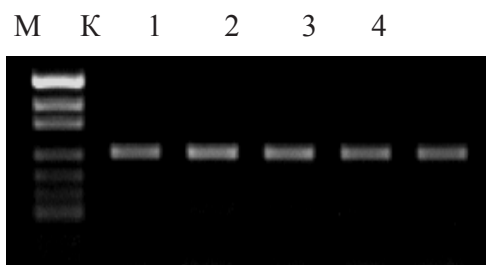


Рис. Зразок електрофореграми продуктів ПЛР з праймерами *planF* і *pREV* до видоспецифічних послідовностей *L. plantarum*:

М – маркери молекулярної маси, К – контроль (амплікони, отримані з ДНК штаму *L. plantarum* ОНУ 12), 1–4 – амплікони, отримані з ДНК молочнокислих бактерій, виділених з ґрунту на четверту добу дослідження

Fig. Example of an electrophoregram of products of PCR to species-specific sequences of *L. plantarum*:

М – markers of molecular weight, К – control (amplicons obtained from DNA of *L. plantarum* ONU 12 strain), 1–4 – amplicons obtained from DNA of lactic acid bacteria isolated from soil on the 4th day of experiment

Загалом, з 1-ї по 4-у добу спостерігалось найбільш різке зменшення чисельності бактерій інокулята – на 2–3 порядки. До 16-ї доби кількість лактобацил поступово зменшувалася. Встановлено, що вони краще зберігали життєздатність у ризосфері каланхое, які росли у чорноземному ґрунті. На 16-у добу чисельність лактобацил у ризосфері тест-рослин складала $(1,2 \pm 0,5) \times 10^5$ КУО/мл порівняно з чорноземом, в якому рослини не культивувалися, – $(1,3 \pm 0,2) \times 10^4$ КУО/мл. У торф'яному ґрунті чисельність лактобацил була найменшою – $(4,5 \pm 0,6) \times 10^3$ КУО/мл.

Така ж тенденція спостерігалася і надалі: у торф'яному ґрунті лактобацили виживали найменший термін і переставали виявлятися на 36-у добу. На 40-у добу лактобацили не висівалися з ризосфери каланхое, висадженого у торф'яний ґрунт, а найдовше досліджувані бактерії зберігали життєздатність у ризосфері тест-рослин у чорноземному ґрунті. Після 44-ї доби лактобацили вже не виділялися з ґрунту.

Отже, при внесенні у ґрунт початкової кількості 1×10^9 КУО/г *L. plantarum* ОНУ 12 після 1,5 місяця досліджень бактерії зберігали життєздатність у кількості $(2,8 \pm 0,4) \times 10^2$ КУО/г у чорноземному ґрунті ризосфери рослин. Надалі лактобацили не виділялися, що може свідчити як про їх загибель, так і про перехід у некультивований стан, що здається більш ймовірним з огляду на несприятливі умови ґрунту для бактерій даної групи. Чорноземний ґрунт виявився більш сприятливим для лактобацил, ніж торф'яний.

Дослідження Hoda et al (2011) показали, що лактобацили були здатними виживати у ґрунті з томатами протягом двох місяців [10]. У наших умовах досліді вивчали динаміку зміни чисельності лактобацил у закритій системі – ємностях з ґрунтом у теплиці. В інших літературних джерелах відомості про тривалість виживання лактобацил відсутні. Відомості про молочнокислих бактерій як мешканців ґрунту наводяться у публікаціях з огляду на їх виділення з ґрунту, здебільшого – з ризосфери. Також слід відзначити, що

подібні дослідження проводяться у географічних регіонах з субтропічним або тропічним кліматом, де вологий і теплий ґрунт робить виживання молочнокислих бактерій більш вірогідним. Так, Yanagida et al. [15; 16], Chen et al [4] виділяли молочнокислі бактерії з ґрунту в Японії, а Ekundayo [6], Fhoula et al [7], Oueyiola et al [13] – з ризосфери африканських рослин.

Отже, показано, що залежно від ґрунту та присутності рослин, досліджувані лактобацили здатні зберігати життєздатність до 44 діб.

N. Limanska, O. Basiul, T. Suvorova, G. Stepaniuk, V. Ivanytsia

Odessa National I. I. Mechnykov University,
2, Dvorianska str., Odesa, 65082, Ukraine,
e-mail: limanska@onu.edu.ua

SURVIVAL OF *LACTOBACILLUS PLANTARUM* ONU 12 IN SOIL

Summary

Aim. To reveal the terms of survival of bacteria *Lactobacillus plantarum* ONU 12 in soil. **Materials and Methods.** Bacterial culture of the strain *L. plantarum* ONU 12 was added to chernozem and peat soil in two variants – without plants and with plants *Kalanchoedaigremontiana* Mill to reach the concentration 1×10^8 CFU/g. Every four days the amount of lactobacilli was evaluated by inoculation on agarized MRS medium, and by study of phenotypic characteristics and further identification by polymerase chain reaction. **Results.** Lactobacilli survived for the longest period in plant rhizosphere in humus: on the 44th day of experiment their amount was $(2.8 \pm 0.4) \times 10^3$ CFU/g, and in humus without plants they survived at least for 36 days. In peat soil with outplants lactobacilli survived for the shortest period, and they could not be isolated after 32th day. In rhizosphere of plants in peat soil they survived at least for 36 days. **Conclusion.** Depending on soil type and presence of plants, lactobacilli are able to survive up to 44 days.

Key words: lactic acid bacteria, soil, rhizosphere, survival.

**Н. В. Лиманская, Е. В. Басюл, Т. В. Суворова,
А. В. Степанюк, В. А. Иваныця**

Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина,
e-mail: limanska@onu.edu.ua

СПОСОБНОСТЬ *LACTOBACILLUS PLANTARUM* ОНУ 12 К ВЫЖИВАНИЮ В УСЛОВИЯХ ПОЧВЫ

Реферат

Цель работы: установить сроки сохранения жизнеспособности бактерий *L. plantarum* ОНУ 12 в условиях почвы. **Материалы и методы.** Культуру бактерий штамма *L. plantarum* ОНУ 12 вносили в черноземную и торфяную почву в двух вариантах – без растений и с тест-растениями *Kalanchoe daigremontiana* Mill до достижения концентрации 1×10^9 КОЕ/г.



Через каждые четыре дня проводили контроль численности лактобацилл путем высева микробиоты почвы на агаризованную среду MRS и изучения фенотипических признаков и дальнейшей идентификации методом полимеразной цепной реакции. **Результаты.** Лактобациллы дольше всего сохраняли жизнеспособность в ризосфере растений, культивируемых в черноземной почве: на 44-й день эксперимента их численность составляла $(2,8 \pm 0,4) \times 10^2$ КОЕ/г, а в черноземе без растений бактерии выжили по меньшей мере 36 дней. В торфяной почве без присутствия растений лактобациллы выжили наименьшее время и переставали выявляться после 32-го дня, а в ризосфере растений в торфяной почве выжили по крайней мере в течение 36 суток. **Вывод.** В зависимости от типа почвы и присутствия растений лактобациллы способны сохранять жизнеспособность до 44 дней.

Ключевые слова: молочнокислые бактерии, почва, ризосфера, сохранение жизнеспособности.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Коротаєва Н. В., Ліманська Н. В., Басюл О. В., Сергєєва Ж. Ю., Іваниця В. О. Вживання лактобацил і агробактерій, інтродукованих у філосферу рослин // Біологічні студії. – 2015. – Т. 9, № 2. – С. 23–30.
2. Ржевская В. С., Теплицкая Л. М., Отурина И. П. Колонизация ризопланы корней огурцов микроорганизмами, входящими в состав микробного препарата «Эмбико» // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Медицина. – 2013. – № 4(2). – С. 63–70.
3. Baffoni L., Accorsi M., Gaggia F., Bosi S., Marotti I., Biavati B., Gioia D. D., Dinelli G. Inoculation with “Effective Microorganisms” of *Lolium perenne* L.: evaluation of plant growth parameters and endophytic colonization of roots // Environ Eng Manag J. – 2012. – Vol. 11(S144): <https://pdfs.semanticscholar.org/81dd/5b69abad3187c14c63a15ddf50a74add53c4.pdf>
4. Chen Y. S., Yanagida F., Shinohara T. Isolation and identification of lactic acid bacteria from soil using an enrichment procedure // Lett Appl Microbiol. – 2005. – Vol. 40(3). – P. 195–200.
5. DeMan J. C., Rogosa M., Sharpe M. E. A medium for the cultivation of lactobacilli // J Appl Bacteriol – 1960 – № 23. – P. 130–135.
6. Ekundayo F. O. Isolation and identification of lactic acid bacteria from rhizosphere soil of three fruit trees, fish and ogi // Int J Curr Microbiol Appl Sci. – 2014. – Vol. 3. – P. 991–998.
7. Fhoula I., Najjari A., Turki Y., Jaballah S., Boudabous A., Ouzan H. Diversity and antimicrobial properties of lactic acid bacteria isolated from rhizosphere of olive trees and desert truffles of Tunisia // Biomed Research International. – 2013. doi: 10.1155/2013/405708
8. Gruneberg H., Oschmann C., Dunya S., Ulrich C. Improving green roofs and rail road greening systems using *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus plantarum* // Communications in agricultural and applied biological sciences. – 2006. – Vol. 72. – P. 121–130.
9. Higa T., Kinjo S. Effect of lactic acid fermentation bacteria on plant growth and soil humus formation. In: Proceedings of 1st Intern Conf on Kyusei Nature Farming, Khon Kaen, Thailand. – 1989. – P. 13–16.



10. Hoda A. H., Yomna A. M., Shadia M. A.-A. In vivo efficacy of lactic acid bacteria in biological control against *Fusarium oxysporum* for protection of tomato plant // Life Science J. – 2011. – Vol. 8. – P. 462–468.
11. Limanska N., Ivanytsia T., Basiul O., Krylova K., Biscola V., Chobert J. M., Haertlé T. Effect of *Lactobacillus plantarum* on germination and growth of tomato seedlings // Actaphysiologiae plantarum. – 2013. – No. 35, Vol. 5. – P. 1587–1595.
12. Limanska N. V., Sokolova N. V., Sudak A. A., Galkin M. B., Ivanytsia V. O. Effect of *Lactobacillus plantarum* on growth characteristics of wheat in hydroponics and soil // Microbiology and Biotechnology. – 2018. – № 3(43). – P. 36–49.
13. Oyeyiola G. P., Arekemase M. O., Sule I. O., Agbabiaka T. O. Rhizosphere bacterial flora of Okro (*Hibiscus esculentus*) // SciInt (Lahore). – 2013. – Vol. 25(2). – P. 273–276.
14. Torriani S., Felis G.E., Dellaglio F. Differentiation of *Lactobacillus plantarum*, *L. pentosus* and *L. paraplantarum* by *recA* gene sequence analysis and multiplex PCR assay with *recA* gene-derived primers // Appl Environm Microbiol. – 2001. – Vol. 67(8). – P. 3450–3454.
15. Yanagida F., Chen Y. S., Shinohara T. Searching for bacteriocin-producing lactic acid bacteria in soil // J Gen Appl Microbiol. – 2006. – Vol. 52(1). – P. 21–28.
16. Yanagida F., Srionnual S., Chen Y. S. Isolation and characteristics of lactic acid bacteria from Koshu vineyards in Japan // Lett Appl Microbiol. – 2008. – Vol. 47(2). – P. 134–139.

References

1. Korotaieva NV, Limanska NV, Basiul OV, SergeevaZh, Ivanytsia VO. The survival of lactobacilli and agrobacteria introduced into plant phyllosphere. Biologichni studii. 2015. 9(2): 23 – 30(in Ukrainian).
2. Rzhavskaia VS, Teplytskaia LM, Oturna YP. Colonization of cucumber root rhizoplane with microorganisms from microbial preparation «Embiko». Visnyk Dnipropetrovskoho universytetu. Biologhiia. Medytsyna. 2013. 4(2): 63–70 (in Russian).
3. Baffoni L, Accorsi M, Gaggia F, Bosi S, Marotti I, Biavati B, Gioia DD, Dinelli G. Inoculation with “Effective Microorganisms” of *Lolium perenne* L.: evaluation of plant growth parameters and endophytic colonization of roots. Environ Eng Manag J. 2012; 11(S144): <https://pdfs.semanticscholar.org/81dd/5b69abad3187c14c63a15ddf50a74add53c4.pdf>
4. Chen YS, Yanagida F, Shinohara T. Isolation and identification of lactic acid bacteria from soil using an enrichment procedure. Lett Appl Microbiol. 2005. 40(3): 195–200.
5. DeMan JC, Rogosa M, Sharpe ME. A medium for the cultivation of lactobacilli. J Appl Bacteriol. 1960. 23: 130–135.
6. Ekundayo FO. Isolation and identification of lactic acid bacteria from rhizosphere soil of three fruit trees, fish and ogi. Int J Curr Microbiol Appl Sci. 2014. 3: 991–998.
7. Fhoula I, Najjari A, Turki Y, Jaballah S, Boudabous A, Ouzan H. Diversity and antimicrobial properties of lactic acid bacteria isolated from rhizosphere of olive trees and desert truffles of Tunisia. Biomed Research International. 2013: doi: 10.1155/2013/405708



8. Gruneberg H, Oschmann C, Dunya S, Ulrich C. Improving green roofs and rail road greening systems using *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus plantarum*. Communications in agricultural and applied biological sciences. 2006. 72: 121–130.

9. Higa T, Kinjo S. Effect of lactic acid fermentation bacteria on plant growth and soil humus formation. In: Proceedings of 1st Intern Conf on Kyusei Nature Farming, KhonKaen, Thailand. 1989: 13–16.

10. Hoda AH, Yomna AM, Shadia MA-A. *In vivo* efficacy of lactic acid bacteria in biological control against *Fusarium oxysporum* for protection of tomato plant. Life Science J. 2011. 8: 462–468.

11. Limanska N, Ivanytsia T, Basiul O, Krylova K, Biscola V, Chobert JM, Haertlé T. Effect of *Lactobacillus plantarum* on germination and growth of tomato seedlings. Actaphysiologiae plantarum. 2013. 35(5): 1587–1595.

12. Limanska NV, Sokolova NV, Sudak AA, Galkin MB, Ivanytsia VO. Effect of *Lactobacillus plantarum* on growth characteristics of wheat in hydroponics and soil. Microbiology and Biotechnology. 2018. 3(43): 36–49.

13. Oyeyiola GP, Arekemase MO, Sule I, Agbabiaka T.O. Rhizosphere bacterial flora of Okro (*Hibiscus esculentus*). SciInt (Lahore). 2013. 25(2): 273–276.

14. Torriani S, Felis GE, Dellaglio F. Differentiation of *Lactobacillus plantarum*, *L. pentosus* and *L. paraplantarum* by *recA* gene sequence analysis and multiplex PCR assay with *recA* gene-derived primers. Appl Environm Microbiol. 2001. 67(8): 3450–3454.

15. Yanagida F, Chen YS, Shinohara T. Searching for bacteriocin-producing lactic acid bacteria in soil. J Gen Appl Microbiol. 2006. 52(1): 21–28.

16. Yanagida F, Srionnual S, Chen YS. Isolation and characteristics of lactic acid bacteria from Koshu vineyards in Japan. Lett Appl Microbiol. 2008. 47(2): 134–139.

Стаття надійшла до редакції 22.01.2019 р.

