

33 дня наличие азотфиксирующих и фосфатмобилизующих эндофитов при двух способах обработки различалось только в листьях. Совместная обработка семян сои клубеньковыми *Bradyrhizobium japonicum* БИМ В-501Д и фосфатмобилизующими бактериями *Ps. fluorescens* 11Е бактериями в модельных условиях обеспечивает увеличение нодулирующей способности на 50 %. При инокуляции семян сои клубеньковыми *Br. japonicum* БИМ В-501Д, азотфиксирующими *R. radiobacter* 27с и фосфатмобилизующими *Ps. fluorescens* 11Е бактериями в модельных условиях количество клубеньков возрастает на 70% по сравнению с моноинокулированным контролем, а высота растений увеличивается на 19%.

Интродуцированные бактериальные эндофиты сои активно заселяли эндосферу растений, что свидетельствует о высокой колонизирующей активности выделенных штаммов азотфиксирующих и фосфатмобилизующих бактерий.

Литература

1. Методы общей бактериологии. Т. 2. // Под ред. Герхардта Ф. М.: Мир, 1984. 472 с.

UDC 579.6+606:63

Ananyeva I. N., Aleschenkova Z. M., Rybaltovskaya P. V., Chindareva M. A.

Effect of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) treatments on the introduction capacity of endophytic bacteria

Summary. The goal of the work was to obtain antibiotic-resistant forms of endophytic *Glycine max* L. (Merrill) bacteria and to study their introduction potential affected by different seed treatment methods. Rifampicin-resistant variants of endophytic soybean bacteria *Rhizobium radiobacter* 27с and *Pseudomonas fluorescens* 11Е preserving valuable properties were derived. Soybean seed treatment with *Bradyrhizobium japonicum* BИM V-501D and endophytic nitrogen-fixing *Rh. radiobacter* 27с, phosphate-mobilizing *Ps. fluorescens* 11Е bacteria under model conditions promoted accumulation of nitrogen-fixing bacteria in the root, stem and leaves. The number of nodules rose by 70% compared with the mono-inoculated control; plant height increased by 19%.

Keywords: soybean, endophytic nitrogen-fixing and phosphate-mobilizing bacteria, introduction.

DOI 10.33952/2542-0720-2020-5-9-10-104

УДК 579.222

Баранская Марина Ивановна, Чайковская Людмила Александровна,
Клименко Нина Николаевна

Первичная оценка новых штаммов фосфатмобилизующих бактерий

ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»;
e-mail: baranskaya@rambler.ru

Фосфор (Р) является жизненно важным элементом. После азота он является вторым основным элементом, влияющим на рост и урожайность растений. Ортофосфатные анионы (главным образом H_2PO_4^- и HPO_4^{2-}) представляют собой форму Р, поглощаемую растениями из почвенного раствора. Однако их концентрация в почве очень низкая, поскольку эти анионы химически очень активны и быстро реагируют с катионами Ca^{2+} в щелочных почвах или Al^{3+} и Fe^{2+} в кислых почвах, образуя труднорастворимые формы, недоступные для растений. Выделение и скрининг штаммов с повышенной фосфатрастворяющей активностью является необходимым этапом исследований по интенсификации фосфорного питания растений за счет предпосевной обработки семян фосфатмобилизующими микроорганизмами [1]. Данный агроприем является одним из перспективных и экологических путей повышения фосфорного питания сельскохозяйственных растений. В отделе сельскохозяйственной микробиологии ФГБУН «НИИСХ Крыма»

проводятся работы по селекции штаммов почвенных микроорганизмов и созданию удобрительных препаратов на их основе. В процессе исследований из чернозема южного выделен и изучен эффективный штамм *Lelliottia nimipressuralis* ССМ 32-3, который зарегистрирован в Крымской коллекции микроорганизмов (<https://niishk.ru/innovacionnye-razrabotki/kollekciya-mikroorganizmov/>). Установлено, что этот штамм является продуцентом органических кислот и фермента (щелочной фосфатазы), что способствует превращению труднорастворимых фосфатов в соединения, усвояемые растениями [2, 3]. На основе *L. nimipressuralis* ССМ 32-3 создан биологический препарат для оптимизации минерального питания растений, стимуляции их роста и повышения урожайности [4].

Поисковые работы по выделению перспективных ризосферных штаммов фосфатмобилизующих бактерий продолжаются и в настоящее время. В связи с этим целью наших исследований являлась первичная оценка новых штаммов фосфатмобилизующих бактерий, выделенных из ризосферы злаковых культур.

Выделение штаммов потенциально активных штаммов фосфатмобилизующих бактерий проводили из ризосферы злаковых растений (озимая пшеница, яровой ячмень) по признаку появления зоны просветления около колоний на агаризованной глюкозо-аспарагиновой (ГА) среде с добавлением $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, согласно методическим указаниям [5]. Коэффициент удельной фосфатрастворяющей активности штаммов ($K_f = \text{радиус зоны растворения } \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 / \text{радиус колонии}$) рассчитывали по методике И. М. Малиновской [6]. Количественная оценка фосфатрастворяющей активности микроорганизмов в жидкой среде определена по общепринятой методике [5]. Культивирование микроорганизмов осуществляли в течение двух суток на качалке при 220 об./мин и температуре 28 °С. Водорастворимый фосфор в среде определяли по ПНД Ф 14.1:2:4.112-97 [7], для этого культуральную жидкость отделяли от микробных клеток центрифугированием при 6000 об./мин 15 мин. По разнице между содержанием фосфора в опытном и контрольном (не засеянном) вариантах судили о фосфатрастворяющей активности микроорганизмов.

Для исследований отобраны 28 штаммов бактерий. Каждый из них в агаризованной ГА среде образовал зону растворения $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, диаметр которой варьировал в пределах 1,5–11,0 мм. При расчете K_f установлено, что его значения соответствуют высокой фосфатрастворяющей активности выделенных штаммов: величина коэффициента K_f составила от 1,2 до 10. Наибольшая величина K_f отмечена для штамма 0613: коэффициент фосфатрастворяющей активности равен 10.

Анализ результатов исследований, полученных при количественной оценке фосфатрастворяющей активности микроорганизмов в жидкой среде, показал, что наибольшую способность к трансформации $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ в растворимую форму имели 12 штаммов: 0613, 0735, 0890, 1105, 1204, 1301, 1302, 1303, 1602, 1603, 1701, 1702. В культуральной жидкости отмеченных штаммов содержалось от 73 до 212 мг/л P_2O_5 . Максимальное содержание растворимого фосфора отмечено в культуральной жидкости штамма 1702, оно составило 212 мг/л P_2O_5 .

Итак, проведена первичная оценка новых штаммов фосфатмобилизующих бактерий, выделенных из ризосферы злаковых культур. По результатам количественной оценки фосфатрастворяющей активности бактерий выявлено, что наибольшей способностью к трансформации $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ в растворимую форму имеют 12 штаммов, которые планируется использовать в дальнейшей работе.

Литература

1. Richardson A. E., Simpson R. J. Soil microorganisms mediating phosphorus availability // *Plant Physiology*. 2011. Vol. 156. № 3. P. 989–996.
2. Чайковская Л. А. Свойства нового штамма фосфатмобилизующих бактерий // Бюлетень Інституту сільськогосподарської мікробіології. 2000. № 6. С. 57–58.
3. Чайковская Л. А., Ключенко В. В., Баранская М. И., Овсиенко О. Л. Фосфатмобилизующие бактерии в агроценозах Крыма. Монография. Симферополь: ИТ «АРИАЛ», 2018. 156 с.

4. Патент РФ № 2676926. Фосфатмобилизирующий штамм почвенных бактерий *Lelliottia nimipressuralis* ССМ 32-3 и биопрепарат на его основе для оптимизации минерального питания растений, стимуляции их роста и повышения урожайности. 11.01.2019.

5. Методические указания по выделению микроорганизмов, растворяющих труднодоступные минеральные и органические соединения фосфора. Ленинград, 1981. 19 с.

6. Малиновская И. М. Определение фосфатрастворяющей активности микроорганизмов на жидкой и агаризованной средах // Агроэкологичный журнал. 2002. № 3. С. 68–71.

7. ПНД Ф 14.1:2:4.112-97. Методика измерений массовой концентрации фосфат-ионов в питьевых, поверхностных и сточных водах фотометрическим методом с молибдатом аммония. М.: Федеральная служба по надзору в сфере природопользования, 1997. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4293808/4293808593.htm> (дата обращения 10.04.2020).

UDC 579.222

Baranskaya M. I., Chaikovskaya L. A., Klimenko N. N.

Primary evaluation of a new strain of phosphate-mobilizing bacteria

Summary. An initial assessment of new strains of phosphate-mobilizing bacteria isolated from the rhizosphere of cereals was carried out in the laboratory. According to the results of the quantitative evaluation of the phosphate solubilizing activity of bacteria, we found that 12 strains have the greatest ability to transform $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ into a soluble form. The highest Kr value was noted for strain 0613: the coefficient of phosphate solubilizing activity – 10. The maximum content of soluble (212 mg/l P_2O_5) phosphorus was in the culture liquid of strain 1702.

Keywords: phosphate-mobilizing bacteria, phosphorus, culture liquid.

DOI 10.33952/2542-0720-2020-5-9-10-105

УДК 631.46:579.64:581.557:577.15

Белимов Андрей Алексеевич¹, Шапошников Александр Иванович¹, Сырова Дарья Сергеевна¹, Азарова Татьяна Степановна¹, Макарова Наталья Михайловна¹, Юзихин Олег Сергеевич^{1,2}, Сафронова Вера Игоревна¹

Воздействие микроорганизмов и тяжелых металлов на экссудацию низкомолекулярных органических соединений корнями растений

¹ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии»;

²ФГБНУ «Всероссийский институт защиты растений»

e-mail: belimov@rambler.ru

Корневые экссудаты содержат органические кислоты, сахара, аминокислоты, неорганические лиганды и другие вещества [1]. Эти вещества служат источниками углерода и энергии для почвенных микроорганизмов, изменяют физико-химические характеристики ризосферы и нейтрализуют негативные эффекты токсичных металлов [2]. Цель наших исследований – изучение влияния рост-стимулирующих ризобактерий (*Pseudomonas oryzae* и *Variovorax paradoxus*) и токсичных элементов (Al, Cd и Hg) на корневую экссудацию у различных генотипов гороха посевного (*Pisum sativum* L.). Для этого использованы методы периодических культур, гнотобиотических растительно-микробных систем, эмиссионной спектрометрии и жидкостной хроматографии. Установлено, что ризобактерии активно утилизируют выделяемые корнями органические кислоты и сахара и способствовали повышению pH и иммобилизации Al в ризосфере. Экссудация органических кислот усиливалась под действием Al, но корреляции этого параметра с устойчивостью к токсиканту не обнаружено. Изучено влияние Cd и Hg на корневую экссудацию дикого типа гороха SGE и мутанта SGEcd¹ [3]. Кадмий повысил экссудацию многих первичных органических кислот, сахаров и аминокислот и этот эффект в большей степени проявился у мутанта SGEcd¹. Стимуляция экссудации аминокислот обнаружена при обработке ртутью в большей степени у дикого типа SGE. Совместное действие Cd и Hg не приводило к дальнейшему усилению экссудации. Спектр этих органических кислот во всех вариантах опыта и реакция генотипов на токсичные металлы были сходными. Кадмий