

DOI 10.33952/2542-0720-2021-1-25-28-37

УДК 579.2: 579.222: 546.18

Баранская М. И., Чайковская Л. А.

ПЕРВИЧНАЯ ОЦЕНКА НОВОВЫДЕЛЕННЫХ ШТАММОВ ФОСФАТМОБИЛИЗУЮЩИХ БАКТЕРИЙ

ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»

Реферат. Выделение и скрининг штаммов с повышенной фосфатрастворяющей активностью – необходимый этап исследований по интенсификации фосфорного питания растений путем предпосевной инокуляции семян эффективными микроорганизмами. Цель исследований – изучение фосфатрастворяющей активности и влияния на посевные качества семян озимой пшеницы *Triticum aestivum* L. нововыделенных штаммов бактерий. Фосфатмобилизующие бактерии выделены в 2014–2019 гг. из чернозема южного, отобранного на полях Ордена Трудового красного Знамени агропромышленного колледжа КФУ им. В.И. Вернадского. Лабораторные исследования проведены в 2019–2020 гг. в отделе сельскохозяйственной микробиологии ФГБУН «НИИСХ Крыма». Выделение штаммов почвенных фосфатмобилизующих бактерий проведено по признаку появления зоны просветления вокруг колоний на агаризованной глюкозо-аспарагиновой (ГА) среде с добавлением $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Коэффициент удельной фосфатрастворяющей активности (K_r) штаммов рассчитан по методике И. М. Малиновской. Количественная оценка фосфатрастворяющей активности бактерий в жидкой среде (содержание P_2O_5) определена колориметрическим методом. Установлено, что для преобладающей части исследуемых штаммов (22 или 81,5 %) характерен высокий K_r , наибольшее его значение (10) отмечено для штамма 0613. Выявлено, что наибольшей способностью к трансформации $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ в растворимую форму имели 12 (44 %) штаммов. Максимальное содержание P_2O_5 (212 мг/л) отмечено в культуральной жидкости штамма 1702. Показано, что при использовании штаммов 0890 и 1702 для инокуляции семян озимой пшеницы возрастала их всхожесть (на 8–9 %) и энергия прорастания – на 2,5 и 7,5 % против контроля (вода) соответственно. Применение штамма 1303 способствовало достоверному увеличению дружности, энергии и скорости прорастания семян: на 34,5, 6 и 5,6 % соответственно по сравнению с контролем. Применение штаммов обеспечивало достоверную прибавку массы проростков по сравнению с контролем: на 29 % – референтный штамм, а также нововыделенные 0735, 1204, 1701 – на 32, 38 и 29 % соответственно.

Ключевые слова: эффективные штаммы, коэффициент удельной фосфатрастворяющей активности, озимая пшеница *Triticum aestivum* L., посевные качества семян.

Для цитирования: Баранская М. И., Чайковская Л. А. Первичная оценка нововыделенных штаммов фосфатмобилизующих бактерий // Таврический вестник аграрной науки. 2021. № 1(25). С. 28–37. DOI: 10.33952/2542-0720-2021-1-25-28-37.

For citation: Baranskaya M. I., Chaikovskaya L.A Primary evaluation of newly isolated strains of phosphate-mobilizing bacteria // Taurida Herald of the Agrarian Sciences. 2021. No. 1(25). P. 28–37. DOI: 10.33952/2542-0720-2021-1-25-28-37.

Введение

Фосфор (P) является вторым после азота основным жизненно важным элементом, влияющим на рост и продуктивность растений. Ортофосфатные анионы (главным образом H_2PO_4^- и HPO_4^{2-}) представляют собой форму P, 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 путем предпосевной обработки семян фосфатмобилизующими микроорганизмами. Данный агроприем – один из перспективных и экологичных способов повышения фосфорного питания сельскохозяйственных растений [1–6]. В отделе сельскохозяйственной микробиологии ФГБУН «НИИСХ Крыма» проводят работы по селекции штаммов почвенных микроорганизмов и созданию удобрительных препаратов на их основе [7–13]. В процессе исследований из чернозема южного выделен и изучен эффективный штамм *Lelliottia nimipressuralis* ССМ 32-3, который зарегистрирован в Крымской коллекции микроорганизмов (<http://ckprf.ru/usu/507484/>). Установлено, что этот штамм является продуцентом органических кислот и фермента (щелочной фосфатазы), способствующих превращению труднорастворимых фосфатов в соединения, усвояемые растениями. На основе *L. nimipressuralis* ССМ 32-3 создан биологический препарат для оптимизации минерального питания растений, стимуляции их роста и повышения урожайности [14]. Поисковые работы по выделению перспективных ризосферных штаммов фосфатмобилизующих бактерий продолжаются и в настоящее время.

Учитывая вышеизложенное, **цель исследований** – изучение фосфатрастворяющей активности и влияния на посевные качества семян озимой пшеницы *Triticum aestivum* L. нововыделенных штаммов бактерий. Согласно поставленной цели, в задачу исследований входило изучение фосфатрастворяющей активности нововыделенных штаммов бактерий и их влияния на посевные качества семян озимой пшеницы.

Материалы и методы исследований

Материалом для исследования выступали фосфатмобилизующие штаммы почвенных микроорганизмов, семена озимой пшеницы *Triticum aestivum* L.

Выделение штаммов потенциально активных фосфатмобилизующих бактерий проводили из ризосферы злаковых растений (озимая пшеница, яровой ячмень) по признаку появления зоны просветления вокруг колоний на агаризованной глюкозо-аспарагиновой (ГА) среде с добавлением $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ согласно методическим указаниям [15]. Коэффициент удельной фосфатрастворяющей активности штаммов ($K_r = \text{радиус зоны растворения } \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 / \text{радиус колонии}$) рассчитывали по методике И. М. Малиновской [16]. Количественную оценку фосфатрастворяющей активности микроорганизмов в жидкой среде определяли по общепринятой методике [16]. Культивирование бактерий осуществляли в течение двух суток в динамических условиях (качалка 220 об./мин) при температуре 28 °С. Определение P_2O_5 в культуральной жидкости штаммов проводили согласно ПНД Ф 14.1:2:4.112-97.

Изучение влияния нововыделенных штаммов на посевные качества семян озимой пшеницы проводили в серии лабораторных опытов по общепринятым методикам [17]. Отобранные штаммы культивировали на жидкой глюкозо-аспарагиновой (ГА) среде в динамических условиях (220 об./мин) при температуре 28° С в течение двух суток. Семена пшеницы инокулировали водными суспензиями двухсуточных культур штаммов (разведение 1:100, титр 1,5–3,0 млрд КОЕ/мл), время экспозиции один час, контроль – вода. В качестве референтного штамма использовали производственный штамм фосфатмобилизующей бактерии *Lelliottia nimipressuralis* ССМ 32-3 [14]. Инокулированные семена раскладывали в чашки

Петри (по 50 штук) на увлажненную стерильную фильтровальную бумагу и выдерживали в термостате при 28 °С. Повторность опыта девятикратная. Для всесторонней оценки влияния штаммов на процесс прорастания семян учитывали ряд принятых в растениеводстве показателей: всхожесть, энергия, дружность и скорость прорастания. Ежедневно отмечали число проросших семян. Дисперсионный анализ полученных результатов проведен по методике Б.А. Доспехова [18].

Результаты и их обсуждение

Из ризосферы злаковых культур в 2014–2019 гг. (чернозем южный карбонатный и темно-каштановая почва) нами выделены 27 потенциально активных штаммов фосфатмобилизирующих бактерий по признаку появления зоны просветления вокруг колоний, выросших на агаризованной среде (ГА).

Показано, что о фосфатрастворяющей активности микроорганизмов по результатам опытов на агаризованной среде более корректно судить не по абсолютному значению радиуса зоны растворения, а по его соотношению к радиусу колонии [16]. Это соотношение является коэффициентом (K_r), отображающим удельную фосфатмобилизирующую активность штамма на агаризованных средах. Численные значения коэффициента K_r соответствуют низкой (до 0,49), средней (0,5–1,49) и высокой (1,5 и больше) фосфатрастворяющей активности.

Характеристика фосфатрастворяющей активности выделенных нами штаммов бактерий представлена в таблице 1.

Таблица 1 – Характеристика нововыделенных штаммов

| Штамм | Радиус зоны, мм | Радиус колонии, мм | K _r (коэффициент удельной фосфатрастворяющей активности) | Степень фосфатрастворяющей активности штамма |
|-------|-----------------|--------------------|---------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|
| 0613 | 10,0 | 1,0 | 10,0 | высокая |
| 0735 | 6,0 | 1,5 | 4,0 | высокая |
| 0759 | 6,0 | 1,0 | 6,0 | высокая |
| 0877 | 8,5 | 2,0 | 4,3 | высокая |
| 0890 | 7,5 | 4,0 | 1,9 | высокая |
| 1105 | 5,5 | 2,0 | 2,8 | высокая |
| 1107 | 4,5 | 2,5 | 1,8 | высокая |
| 1201 | 3,0 | 1,7 | 1,8 | высокая |
| 1204 | 1,5 | 0,4 | 3,3 | высокая |
| 1207 | 2,75 | 2,0 | 1,4 | средняя |
| 1208 | 2,75 | 2,0 | 1,4 | средняя |
| 1209 | 3,25 | 2,5 | 1,3 | средняя |
| 1210 | 3,25 | 2,7 | 1,2 | средняя |
| 1211 | 6,0 | 2,0 | 3,0 | высокая |
| 1301 | 6,0 | 3,5 | 1,7 | высокая |
| 1302 | 9,0 | 3,0 | 3,0 | высокая |
| 1303 | 9,0 | 2,0 | 4,5 | высокая |
| 1305 | 8,0 | 3,0 | 2,7 | высокая |
| 1306 | 7,5 | 3,0 | 2,5 | высокая |
| 1501 | 11,0 | 4,5 | 2,4 | высокая |
| 1601 | 4,5 | 1,0 | 4,5 | высокая |
| 1602 | 4,5 | 1,0 | 4,5 | высокая |
| 1603 | 3,0 | 1,0 | 3,0 | высокая |
| 1604 | 2,5 | 1,5 | 1,7 | высокая |
| 1606 | 4,0 | 3,0 | 1,3 | средняя |
| 1701 | 10,0 | 3,5 | 2,9 | высокая |
| 1702 | 3,5 | 1,0 | 3,5 | высокая |

Выявлено, что каждый из них на агаризованной ГА среде образовал зону растворения труднорастворимого минерального фосфата Ca₃(PO₄)₂, диаметр которой

варьировал в пределах 1,5–11,0 мм. При расчете коэффициента удельной фосфатрастворяющей активности штаммов (K_т) установлено, что его значения соответствуют средней и высокой фосфатрастворяющей активности: величина численных значений варьировала в пределах 1,2–10,0. Необходимо отметить, что для большинства нововыделенных штаммов бактерий (22,0 шт. или 81,5 %) характерна высокая фосфатрастворяющая активность, и только для пяти штаммов (18,5 % от исследуемого количества) она была средней. Наибольшее численное значение K_т отмечено для штамма 0613 – его величина достигала 10.

Анализ результатов исследований, полученных при количественной оценке фосфатрастворяющей активности микроорганизмов в жидкой среде, показал, что наибольшую способность к трансформации Ca₃(PO₄)₂ в растворимую форму проявили 13 штаммов: 0613, 0735, 0890, 1105, 1204, 1301, 1302, 1303, 1602, 1603, 1606, 1701, 1702 (таблица 2).

Таблица 2 – Содержание P₂O₅ в культуральной жидкости нововыделенных штаммов фосфатмобилизующих бактерий

| Вариант | Содержание P ₂ O ₅ , мг/л |
|--------------------------------|-------------------------------------------------|
| <i>L. nimipressuralis</i> 32-3 | 19 |
| 0613 | 83 |
| 0735 | 122 |
| 0759 | 4 |
| 0877 | 5 |
| 0890 | 122 |
| 1105 | 122 |
| 1107 | 2 |
| 1201 | 4 |
| 1204 | 123 |
| 1207 | 0 |
| 1208 | 0 |
| 1209 | 4 |
| 1210 | 0 |
| 1211 | 7 |
| 1301 | 73 |
| 1302 | 97 |
| 1303 | 84 |
| 1305 | 25 |
| 1306 | 0 |
| 1501 | 0 |
| 1601 | 0 |
| 1602 | 116 |
| 1603 | 101 |
| 1604 | 30 |
| 1606 | 66 |
| 1701 | 106 |
| 1702 | 212 |

Содержание P₂O₅ в культуральной жидкости отмеченных штаммов варьировало в пределах 66–212 мг/л P₂O₅. Следует подчеркнуть, что полученные данные значительно превышали показатели референтного штамма *L. nimipressuralis* 32-3 (19 мг/л P₂O₅) – более чем в 3–10 раз. Максимальное содержание водорастворимого фосфора отмечено в культуральной жидкости штамма 1702, оно составило 212 мг/л P₂O₅. Для дальнейших исследований отобраны 12 штаммов: 0613, 0735, 0890, 1105, 1204, 1301, 1302, 1303, 1602, 1603, 1701, 1702.

Поскольку микробные препараты используют для предпосевной инокуляции семян, важное значение имеет изучение действия штаммов, оказываемое в прикорневой зоне при появлении всходов, росте проростков и корешков. Имеются сведения, что обработка семян гороха вторичными метаболитами грибов рода *Trichoderma* позволила повысить их лабораторную всхожесть [19]. Установлено также, что применение комплекса микробных препаратов (на основе *Rhizobium radiobacter* 204, *Lelliottia nimipressuralis* ССМ32-3, *Paenibacillus polymyxa* П) для предпосевной инокуляции семян чернушки *Nigella damascena* L. оказывает положительное воздействие на их посевные качества [20]. Кроме того, показана возможность улучшения посевных качеств семян льна и кориандра путем бактеризации полифункциональными препаративными формами и гомогенатами на основе смешанных культур штаммов *Nostoc linckia* 144 и *Agrobacterium radiobacter* 204 [21].

При анализе результатов наших исследований по изучению влияния нововыделенных штаммов фосфатмобилизующих бактерий на посевные качества семян пшеницы озимой получены следующие данные (таблица 3).

Таблица 3 – Влияние штаммов фосфатмобилизующих бактерий на посевные качества семян озимой пшеницы

| Вариант опыта | Всхожесть семян, % | Дружность прорастания, шт./сут | Энергия прорастания, % | Скорость прорастания, шт./сут |
|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|------------------------|-------------------------------|
| Контроль (вода) | 84,7 | 16,5 | 79,3 | 40,9 |
| <i>L. nimipressuralis</i> 32-3 | 90,0 | 19,9 | 87,3 | 44,2 |
| 0613 | 90,0 | 17,5 | 80,7 | 42,4 |
| 0735 | 86,7 | 19,2 | 78,0 | 40,9 |
| 0890 | 90,7 | 15,1 | 81,3 | 42,6 |
| 1105 | 83,3 | 13,9 | 76,7 | 39,8 |
| 1204 | 82,0 | 18,1 | 77,3 | 39,8 |
| 1301 | 78,7 | 17,4 | 76,7 | 38,8 |
| 1302 | 87,3 | 17,0 | 82,0 | 42,1 |
| 1303 | 88,7 | 22,2 | 84,0 | 43,2 |
| 1602 | 86,0 | 19,0 | 80,7 | 41,5 |
| 1603 | 84,7 | 16,4 | 79,3 | 40,9 |
| 1701 | 84,0 | 21,0 | 81,3 | 41,3 |
| 1702 | 92,7 | 15,4 | 85,3 | 44,0 |
| НСР ₀₅ | 5,0 | 3,7 | 2,0 | 2,3 |

Выявлено, что применение референтного штамма *L. nimipressuralis* 32-3 для инокуляции семян озимой пшеницы привело к возрастанию их всхожести, энергии и скорости прорастания до 90 %, 87,3 % и 44,2 шт./сут, что превышало контроль на 6, 10 и 8 относительных процентов соответственно. Следует отметить, что применение некоторых штаммов позволило получить результаты, близкие к показателям производственного штамма. Так, использование для инокуляции семян пшеницы штаммов 0890 и 1702 способствовало увеличению всхожести семян на 8–9 %, а энергии прорастания – на 3 и 8 % по сравнению с контролем соответственно. Применение штамма 1303 способствовало достоверному увеличению дружности, энергии и скорости прорастания: на 35, 6 и 6 относительных процентов по сравнению с контролем соответственно.

Рассмотрим воздействие изучаемых штаммов на продуктивность проростков озимой пшеницы. Анализ результатов, полученных в лабораторном опыте, свидетельствует о том, что обработка семян некоторыми исследуемыми штаммами способствовала возрастанию массы проростков озимой пшеницы (рисунок 1).

Так, применение референтного штамма обеспечило прибавку массы проростков на 29 % (0,44 г/100 проростков) по сравнению с контролем. Достоверная прибавка массы проростков отмечена при использовании штаммов 0613, 0735, 1204,

1303, 1602, 1701. Наиболее значимое влияние на величину данного показателя оказывали штаммы 0735, 1204 и 1701: их применение для инокуляции семян озимой пшеницы привело к возрастанию массы проростков на 32, 38 и 29 % по сравнению с контролем соответственно.

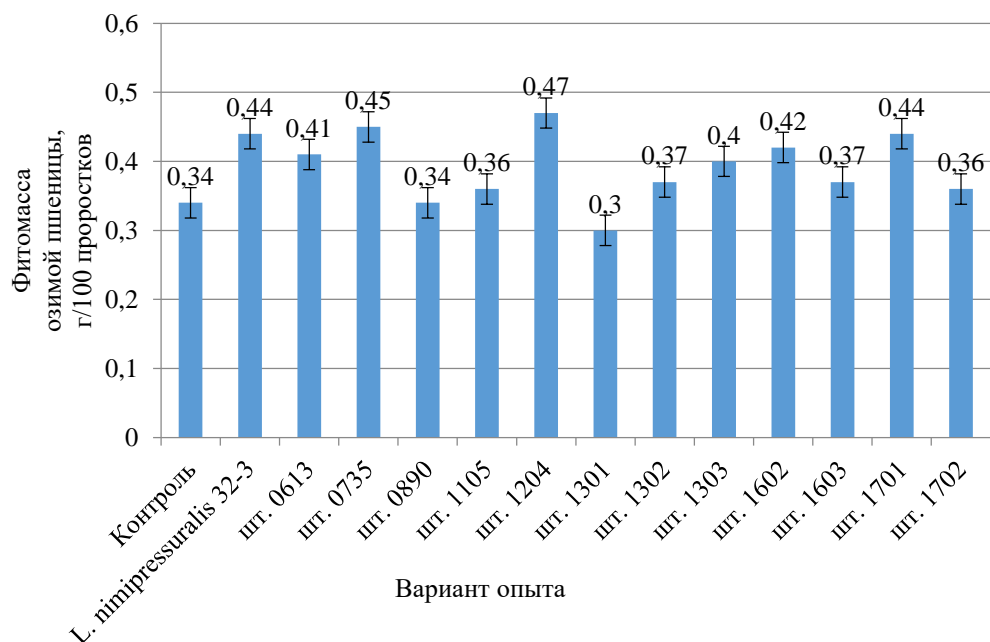


Рисунок 1 – Влияние штаммов фосфатмобилизующих бактерий на фитомассу озимой пшеницы (сухая масса, лабораторный опыт)

Несколько иное воздействие оказывали исследуемые штаммы фосфатмобилизующих бактерий на массу корней проростков озимой пшеницы (рисунок 2). Достоверная прибавка массы корней, которая составила 9 % по сравнению с контролем, отмечена только при использовании штаммов 1105 и 1302.

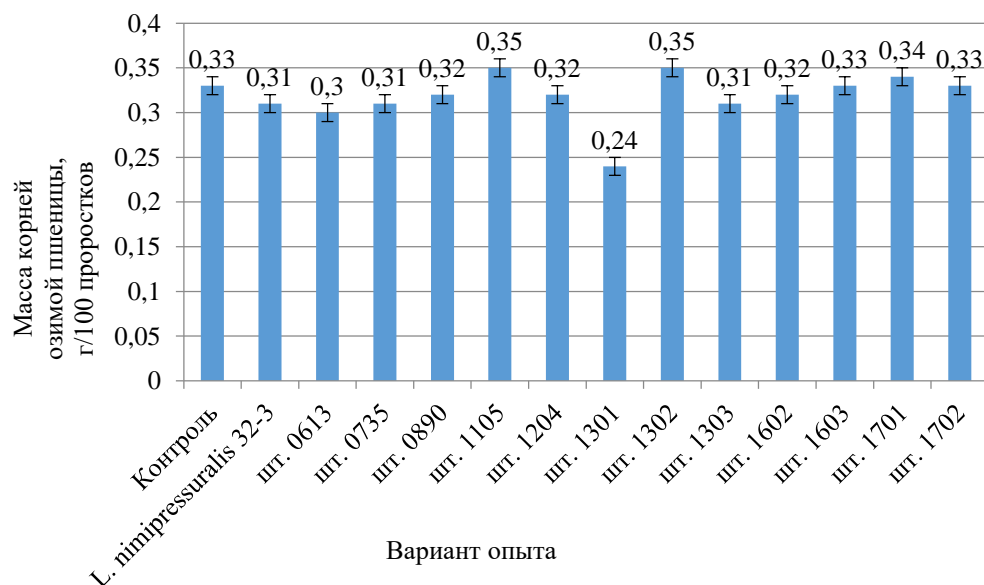


Рисунок 2 – Влияние штаммов фосфатмобилизующих бактерий на массу корней озимой пшеницы (сухая масса, лабораторный опыт)

Следует отметить отрицательное воздействие штаммов 1301 и 1501 на массу корней проростков. Так, их использование для обработки семян пшеницы привело к снижению массы корней на 27 % (штамм 1301) и 24 % (штамм 1501) по сравнению с контролем.

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.

Выводы

Проведена первичная оценка нововыделенных штаммов фосфатмобилизующих бактерий. Установлено, что для большинства исследуемых штаммов (81,5 %) характерен высокий коэффициент удельной фосфатрастворяющей активности (Кг), наибольшее его значение (10) отмечено для штамма 0613. Выявлено, что наибольшей способностью к трансформации $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ в растворимую форму обладают 12 (44 %) штаммов, максимальное содержание P_2O_5 (212 мг/л) отмечено в культуральной жидкости штамма 1702.

В условиях лабораторных опытов изучено влияние отобранных штаммов фосфатмобилизующих бактерий на посевные качества семян пшеницы озимой. Показано, что использование штаммов 0890 и 1702 для инокуляции семян озимой пшеницы способствовало увеличению их всхожести на 8–9 относительных процентов, энергии прорастания – на 3 и 8 относительных процентов против контроля (вода) соответственно. Применение штамма 1303 способствовало достоверному увеличению дружности, энергии и скорости прорастания семян: на 35; 6 и 6 относительных процентов по сравнению с контролем соответственно. Показано, что применение штаммов обеспечивает достоверную прибавку массы проростков по сравнению с контролем: на 29 % (0,44 г/100 проростков) референтный штамм, а также нововыделенные: 0735, 1204, 1701 – на 32, 38 и 29 % соответственно.

Литература

1. Муромцев Г. С., Маршунова Г. Н., Павлова В. Ф., Зольникова Н. В. Роль почвенных микроорганизмов в фосфорном питании растений // Успехи микробиологии. 1985. Т. 20. С. 174–198.
2. Khan M. S., Zaidi A., Wani P.A. Role of phosphate solubilizing microorganisms in sustainable agriculture // Agron. for Sustainable Development. 2007. Vol. 27. P. 29–43.
3. Richardson A. E., Simpson R. J. Soil microorganisms mediating phosphorus availability // Plant Physiology. 2011. Vol. 156. No. 3. P. 989–996.
4. Khan M. S., Zaidi A., Musarrat J. Phosphate solubilizing microorganisms: principles and application of microphos technology. Springer International Publishing, 2014. 307 p. DOI: 10.1007/978-3-319-08216-5.
5. Satyaprakash M., Nikitha T., Reddi E. U. B., Sadhana B., Satya Vani S. Phosphorous and phosphate solubilising bacteria and their role in plant nutrition // International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 2017. Vol. 6. No. 4. P. 2133–2144. DOI: 10.20546/ijemas.2017.604.251.
6. Кудоярова Г. Р., Высоцкая Л. Б., Архипова Т. Н., Кузьмина Л. Ю., Галимзянова Н. Ф., Сидорова Л. В., Габбасова И. М., Мелентьев А. И. Влияние ауксинпродуцирующих и фосфатмобилизующих бактерий на подвижность почвенного фосфора, скорость роста растений пшеницы и усвоение ими фосфора // Агрехимия. 2016. № 5. С. 28–34.
7. Чайковская Л. А. Свойства нового штамма фосфатмобилизующих бактерий // Бюлетень Інституту сільськогосподарської мікробіології УААН. 2000. № 6. С.57–58.
8. Чайковська Л. О. Алелопатичні аспекти впливу *Enterobacter nimipressuralis* 32-3 на рослини // Збірник статей Міжнародної наукової конференції «Фітопатогенні бактерії. Фітонцидологія. Алелопатія». Київ, 2005. С. 298–303.
9. Чайковская Л. А. Научное обоснование биологической мобилизации фосфора в агроэкосистемах южной Степи Украины. Автореф. дисс. ... докт. с.-х. наук. Киев: Национальный аграрный университет, 2004. 37 с.

10. Баранская М. И. Эффективность биопрепаратов фосфатмобилизующих бактерий при выращивании ярового ячменя в условиях южной Степи Украины. Автореф. дисс. ... канд. с.-х. наук. Чернигов: Институт сельскохозяйственной микробиологии УААН, 2010. 20 с.
11. Ключенко В. В. Фосфатмобилизующие бактерии в агроценозах пшеницы озимой южной Степи Украины. Автореф. дисс. ... канд. с.-х. наук. Умань: Уманский национальный университет садоводства, 2012. 22 с.
12. Chaikovskaya L. A., Baranskaya M. I. The mechanism of action of rhizobacteria *Enterobacter nimipressuralis* 32-3 on the mineral nutrition and productivity of soybean // Annual Research & Review in Biology. 2017. Vol. 14. Iss. 5. DOI: 10.9734/ARRB/2017/33934.
13. Фосфатмобилизующие бактерии в агроценозах Крыма: монография // Под ред. Чайковской Л. А. Симферополь: ИТ «АРИАЛ», 2018. 156 с.
14. Патент РФ № 2676926. «Фосфатмобилизующий штамм почвенных бактерий *Lelliottia nimipressuralis* ССМ 32-3 и биопрепарат на его основе для оптимизации минерального питания растений, стимуляции их роста и повышения урожайности» // Чайковская Л. А., Мельничук Т. Н., Каменева И. А., Баранская М. И., Овсиенко О. Л. 2019. Бюлл. № 2. 12 с.
15. Методические указания по выделению микроорганизмов, растворяющих труднодоступные минеральные и органические соединения фосфора // Под ред. Муромцева Г. С. Л.: ВНИИСХМ, 1981. 20 с.
16. Малиновская И. М. Определение фосфатрастворяющей активности микроорганизмов на жидкой и агаризованной средах // Агроекологічний журнал. 2002. № 3. С. 68–71.
17. Некоторые новые методы количественного учета почвенных микроорганизмов и изучения их свойств: Методические рекомендации // Под ред. Возняковской Ю. М. Л.: ВНИИСХМ, 1982. С. 31–35.
18. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. М.: Книга по требованию, 2012. 351 с.
19. Павловская Н. Е., Гнеушева И. А., Солохина И. Ю., Яковлева В. В. Влияние вторичных метаболитов грибов рода *Trichoderma* на посевные качества семян гороха // Сельскохозяйственная биология. 2012. № 3. С. 114–117.
20. Баранская М. И., Чайковская Л. А., Немтинов В. И. Воздействие биоагентов микробных препаратов (*Rhizobium radiobacter* 204, *Lelliottia nimipressuralis* ССМ32-3, *Paenibacillus polymyxa* П) на семена *Nigella damascena* L. // Таврический вестник аграрной науки. 2020. № 3(23). С.1 8–25. DOI: 10.33952/2542-0720-2020-3-23-18-25.
21. Алексеенко О. П., Дидович С. В. Влияние бактеризации на посевные качества семян *Linum usitatissimum* L. и *Coriandrum sativum* L. // Наука вчера, сегодня, завтра. № 8-1 (30). 2016. С. 6–10.

References

1. Muromtsev G. S., Marshunova G. N., Pavlova V. F., Zolnikova N. V. Role of soil microorganisms in phosphorus nutrition of plants // Uspekhi mikrobiologii. 1985. Vol. 20. P.174–198.
2. Khan M. S., Zaidi A., Wani P. A. Role of phosphate solubilizing microorganisms in sustainable agriculture // Agron. for Sustainable Development. 2007. Vol. 27. P. 29–43.
3. Richardson A. E., Simpson R. J. Soil microorganisms mediating phosphorus availability // Plant Physiology. 2011. Vol. 156. No. 3. P. 989–996.
4. Khan M. S., Zaidi A., Musarrat J. Phosphate solubilizing microorganisms: principles and application of microphos technology. Springer International Publishing, 2014. 307 p. DOI: 10.1007/978-3-319-08216-5.
5. Satyaprakash M., Nikitha T., Reddi E.U.B., Sadhana B., Satya Vani S. Phosphorous and phosphate solubilising bacteria and their role in plant nutrition // International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 2017. Vol. 6. No. 4. P.2133–2144. DOI: 10.20546/ijemas.2017.604.251.
6. Kudoyarova G. R., Vysotskaya L. B., Arkhipova T. N., Kuzmina L. Yu., Galimzyanova N. F., Sidorova L. V., Gabbasova I. M., Melentiev A. I. The effect of auxin-producing and phosphate-mobilizing bacteria on soil P-mobility, the growth rate of wheat plants and phosphorus acquisition // Agrohimia. 2016. No. 5. P. 28–34.
7. Chaikovskaya L. A. Properties of a new strain of phosphate-mobilizing bacteria // Byuleten Institutu silskogospodarskoi mikrobiologii UAAN. 2000. No. 6. P. 57–58.
8. Chaikovskaya L. A. Allelopathic aspects of *Enterobacter nimipressuralis* 32-3 on plants // Book of Articles International Scientific Conference “Phytopathogenic bacteria. Phytoncidology. Allelopathy”. Kiev, 2005. P. 298–303.
9. Chaykovska L. A. Scientific principles of the biological mobilization of phosphorus in the agroecosystems of southern Steppe of Ukraine. Authors’ abstract ... Dr. Sc. (Agr.). Kiev: National Agrarian University, 2004. 37 p.

10. Baranskaya M. I. Effect of biopreparations based on phosphate mobilizing bacteria when growing spring barley in the southern Steppe of Ukraine. Authors' abstract ... Cand. Sc. (Agr.). Chernigov: Institute of Agricultural Microbiology UAAS, 2010. 20 p.
11. Klyuchenko V. V. Phosphate mobilizing bacteria in the agrocenosis of winter wheat of the southern Steppe of Ukraine. Authors' abstract ... Cand. Sc. (Agr.). Uman: National University of Horticulture, 2012. 22 p.
12. Chaikovskaya L. A., Baranskaya M. I. The mechanism of action of rhizobacteria *Enterobacter nimipressuralis* 32-3 on the mineral nutrition and productivity of soybean // Annual Research & Review in Biology. 2017. Vol.14 (5). DOI:10.9734/ARRB/2017/33934.
13. Phosphate-mobilizing bacteria in the agrocenosis of the Crimea: monograph // Ed. by Chaikovskaya L. A. Simferopol: Publishig house "ARIAL", 2018. 156 p.
14. Patent RF No. 2676926 "Phosphate-mobilizing strains of soil bacteria *Lelliottia nimipressuralis* CCM 32-3 and biopreparation on its basis for the optimization of mineral nutrition of plants, stimulates their growth and increase yields application" // Chaikovskaya L. A., Melnichuk T. N., Kameneva I. A., Baranskaya M. I., Ovsienko O. L. 2019. Bul. No. 2. 12 p.
15. Methodological guidelines for the isolation of microorganisms that dissolve difficult-to-reach mineral and organic phosphorus compounds // Ed. by Muromtsev G. S. Leningrad: All-Union Research Institute of Agricultural Microbiology (VNIISKhM), 1981. 20 p.
16. Malinovskaya I. M. Determination of phosphate-dissolving activity of microorganisms on liquid and agarised media // Agroecological Journal. 2002. No. 3. P. 68–71.
17. Some new methods for quantifying soil microorganisms and studying their properties: Methodological recommendations // Ed. by Voznyakovskaya Yu. M. Leningrad: ARRIAM, 1982. P. 31–35.
18. Dospekhov B. A. Methods of field research. Moscow: Kniga po trebovaniyu, 2012. 351 p.
19. Pavlovskaya N. E., Gneusheva I. A., Solokhina I. Yu., Yakovlev V. V. Effect of secondary fungal metabolites from *Trichoderma* genus on sowing quality of pea seeds // Agricultural Biology. 2012. No. 3. P. 114–117.
20. Baranskaya M. I., Chaikovskaya L. A., Nemtinov V. I. Effects of biological agents of microbial preparations (*Rhizobium radiobacter* 204, *Lelliottia nimipressuralis* CCM32-3, *Paenibacillus polymyxa* P) on the seeds of *Nigella damascena* L. // Taurida Herald of the Agrarian Sciences. 2020. No. 3 (23). P. 18–25. DOI: 10.33952/2542-0720-2020-3-23-18-25.
21. Alekseenko O. P., Didovich S. V. The influence bacterization on the sowing quality of seeds *Linum usitatissimum* L. and *Coriandrum sativum* L. // Science yesterday, today, tomorrow. 2016. No. 8-1 (30). P. 6–10.

UDC 579.2: 579.222: 546.18

Baranskaya M. I., Chaikovskaya L.A

PRIMARY EVALUATION OF NEWLY ISOLATED STRAINS OF PHOSPHATE-MOBILIZING BACTERIA

Summary. Isolation and screening of strains with increased phosphate-dissolving activity are necessary stages of research on the intensification of phosphorus nutrition of plants by pre-sowing inoculation of seeds with effective microorganisms. The purpose of the research was to study the phosphate-dissolving activity of newly isolated bacterial strains and their effect on the sowing qualities of winter wheat seeds. Phosphate-mobilizing bacteria were isolated in 2014–2019 from the chernozem southern sampled in the fields of the Order of the Red Banner of Labour Agro-Industrial College – structural unit of V.I. Vernadsky Crimean Federal University. Laboratory studies were carried out in 2019–2020 in the Department of Agricultural Microbiology of the Research Institute of Agriculture of Crimea. The isolation of strains of soil phosphate-mobilizing bacteria was carried out based on the appearance of a clear zone around the colonies on agarized glucose-aspartic (GA) medium supplemented with $Ca_3(PO_4)_2$. The coefficient of specific phosphate-dissolving activity (K_r) of the strains was calculated according to the method of I. M. Malinovskaya. The quantitative assessment of the phosphate-dissolving activity of bacteria in a liquid medium (P_2O_5 content) was determined by the colorimetric method. High K_r is typical for the predominant part of the studied strains (22 or 81.5 %). The

highest K_r value (10) was noted for strain 0613. Twelve (44 %) strains demonstrated the highest ability to transform $Ca_3(PO_4)_2$ into a soluble form. The maximum content of P_2O_5 (212 mg/l) was observed in the culture fluid of strain 1702. When winter wheat seeds were inoculated with strains 0890 and 1702, germination increased by 8–9 %. The same was with germination energy; it also increased compared to control (water) by 2.5 and 7.5 %, respectively. The use of strain 1303 contributed to a significant increase in the energy and germination rate of seeds: by 34.5, 6 and 5.6 %, respectively, compared to control. The strains provided a significant increase in the weight of seedlings compared to control: by 29 % – the reference strain; by 32, 38 and 29 % – newly isolated 0735, 1204, 1701, respectively.

Keywords: effective strains, coefficient of specific phosphate-dissolving activity, winter wheat *Triticum aestivum* L., sowing qualities of seeds.

Баранская Марина Ивановна, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории растительно-микробного взаимодействия ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»; 295053, Россия, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Киевская, 150; e-mail baranskaya@rambler.ru.

Чайковская Людмила Александровна, доктор сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник, главный научный сотрудник лаборатории растительно-микробного взаимодействия ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»; 295053, Россия, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Киевская, 150; e-mail: ludachaika@mail.ru.

Baranskaya Marina Ivanovna, Cand. Sc. (Agr.), leading researcher, Laboratory of plant-microbe interaction, FSBSI “Research Institute of Agriculture of Crimea”; 150, Kievskaya str., Simferopol, Republic of Crimea, 295053, Russia; e-mail: baranskaya@rambler.ru.

Chaikovskaya Ludmila Aleksandrovna, Dr. Sc. (Agr.), senior researcher, chief researcher, Laboratory of plant-microbe interaction, FSBSI “Research Institute of Agriculture of Crimea”; 150, Kievskaya str., Simferopol, Republic of Crimea, 295053, Russia; e-mail: ludachaika@mail.ru.

Дата поступления в редакцию – 20.01.2021.

Дата принятия к печати – 27.02.2021.