

DOI: 10.25637/TVAN2018.04.09.

УДК 631.461:579.64.

Мельничук Т. Н.¹, Еговцева А. Ю.¹, Абдурашитов С. Ф.¹, Андронов Е. Е.²,

Абдурашитова Э. Р.¹, Радченко А. Ф.¹, Ганоцкая Т. Л.¹, Радченко Л. А.¹

АССОЦИАТИВНЫЕ БАКТЕРИИ К *TRITICUM AESTIVUM* L. ЧЕРНОЗЕМОВ ЮЖНОГО И ОБЫКНОВЕННОГО

¹ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»;

²ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии»

Реферат. В настоящее время перспективным направлением исследований является разработка ризосферных биотехнологий с использованием ассоциативных бактерий к конкретному виду растений, которые позволяют повысить их продуктивный потенциал и качество продукции, что способствует повышению устойчивости агроэкосистем и сохранению окружающей среды. Цель исследований – изучение микробиома ризосферы пшеницы мягкой и штаммов ассоциативных бактерий, выделенных с различных сортов, выращенных в условиях чернозема южного и чернозема обыкновенного. Исследования проводили в условиях 2018 г. на трех сортах пшеницы озимой (*Triticum aestivum* L.) Багира, Лидия и Ермак. В процессе исследований использованы современные подходы изучения таксономической структуры ризосферного микробиома с использованием высокопроизводительного секвенирования библиотек гена 16S рРНК. Доминировали среди прокариот чернозема южного представители 10 фил, доля которых составила более 1 %. Домен археи представлен *Crenarchaeota*, бактерии – *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Chloroflexi*, *Firmicutes*, *Gemmatimonadetes*, *Planctomycetes*, *Proteobacteria* и *Verrucomicrobia*. Выявлены представители неатрибутируемого домена прокариот, доля которого в образцах чернозёмов составляла 2,4–4,0 %. Наиболее высокой долей у исследуемых сортов отмечена фила *Proteobacteria*, при этом разница по почвам незначительна (Багира – 25,5–27,3 %, Ермак – 24,3–29,1 %, Лидия – 23,7–26,1 %). Пять новых штаммов ассоциативных бактерий пшеницы, идентифицированных методом секвенирования гена 16S рРНК, принадлежали к пяти видам из различных таксономических групп и показали различную эффективность на черноземах южном и обыкновенном. Штаммы *Bacillus* sp. B5 и *Agrobacterium tumefaciens* R1 обеспечили прирост биомассы побега сорта Багира в условиях чернозема обыкновенного 0,10 г (48 %) и 0,13 г (62 %) соответственно, по сравнению с контролем (0,21 г). Таким образом, определены изменения таксономического состава микробиома черноземов южного и обыкновенного ризосферы трех сортов пшеницы под влиянием, как сорта, так и почвенно-климатических условий его выращивания. Выделено пять штаммов ассоциативных бактерий, перспективных для дальнейшей биотехнологии ризосферы агроценозов.

Ключевые слова: ассоциативные бактерии, *Triticum aestivum* L., чернозем южный, чернозем обыкновенный.

Введение

Важной экологической нишей для почвенных микроорганизмов, вступающих во взаимодействие с растениями, является ризосфера. Растения в процессе своей жизнедеятельности способны выделять различные органические вещества в больших количествах, что может составлять более 30 % продуктов фотосинтеза. Так, размер сезонной корневой экссудации растениями пшеницы может находиться в пределах 6–10 т/га органического вещества [1]. Корневые экссудаты являются не только

источником питательных веществ для микроорганизмов, но и выполняют роль сигнальных и регуляторных молекул при их взаимодействии с растениями.

На формирование микробиоценоза ризосферы и его разнообразие влияет ряд факторов, среди которых как наиболее существенные выделяют почвенный и растительный [2–4].

Ассоциативные микроорганизмы, обитая в почве ризосферы и используя как трофическую основу корневые экссудаты, формируют на корнях сложные по таксономическому составу и структурно-функциональной организации сообщества, которые оказывают на растения полифункциональное воздействие. В свою очередь, ассоциативные микроорганизмы способны обеспечивать растения доступными формами питательных веществ, стимулировать их рост и развитие, повышать адаптивный потенциал к стресс-факторам окружающей среды [5–7].

В настоящее время перспективным направлением исследований является разработка ризосферных биотехнологий с использованием ассоциативных бактерий к конкретному виду растений, которые позволяют повысить их продуктивный потенциал и качество продукции, что способствует повышению устойчивости агроэкосистем и сохранению окружающей среды.

Цель исследований – изучение микробиома ризосферы пшеницы мягкой и штаммов ассоциативных бактерий, выделенных с различных сортов, выращенных в условиях чернозема южного и чернозема обыкновенного.

Материалы и методы исследований

Исследования проводили в условиях 2018 г. на трех сортах пшеницы озимой *Triticum aestivum* L. Сорт Лидия, селекции АНЦ «Донской», относится к среднеранним сортам и обладает высокой устойчивостью к полеганию. Высокопродуктивный сорт, устойчивый к поражению бурой ржавчиной и пыльной головней, с повышенным уровнем засухоустойчивости и морозостойкости. Сорт Багира, оригинатором которого является Ставропольский НИИСХ, устойчив к поражению бурой ржавчиной и мучнистой росой, умеренно устойчив к септориозу, умеренно восприимчив к фузариозу колоса. Среднезимостойкий сорт, имеет выше средней устойчивость к полеганию и засухе. Сорт Ермак выведен в АНЦ «Донской», устойчив к бурой ржавчине, средневосприимчив к мучнистой росе, слабовосприимчив к пыльной головне. Сорт отличается высокой засухоустойчивостью, зимостойкость выше средней.

Отборы растений, выращенных после черного пара в черноземе (Chernozems) южном предгорной зоны, с. Крымская роза (45°02'18''N 34°22'09''E) и степной зоны Крыма, с. Клепинино (45°31'37''N 34°09'41''E), черноземе обыкновенном Ростовской области, г. Зерноград (46°51'40''N 40°17'05''E) и Ставропольского края, г. Михайловск (45°07'22''N 42°04'22''E) проводили в фазу выхода в трубку.

Чернозем южный степной зоны Крыма слабо гумусированный, развит на четвертичных желто-бурых лессовидных легких глинах. Мощность гумусового горизонта составляет 24–36 см, всего 57–70 см. Содержание гумуса в пахотном горизонте составляет 2,4–2,7 %. В 100 г абсолютно сухой почвы пахотного слоя содержится 5,2 мг легкогидролизуемого азота, 1,0–2,5 мг фосфора, 42 мг калия. Реакция почвенного раствора в верхнем горизонте слабощелочная (рН 7,7–7,9).

Климат степной зоны засушливый, гидротермический коэффициент (ГТК) составляет 0,7, умеренно жаркий, с умеренно мягкой зимой. Среднегодовая температура воздуха 9,7–10,5 °С. В июле в полдень температура повышается до 28,9–30,2 °С, а в некоторые годы – до 40–42 °С. Средний минимум годовых температур составляет от –19 до –23 °С. Зимой возможно понижение температуры до –31 °С. Вегетационная оттепель вероятна в 35 % зим. Период без заморозков – 171 день.

Сумма температур выше 10 °С достигает 3280 °С. Годовая сумма осадков – 435 мм, из них в период активной вегетации выпадает 285 мм. Годовая испаряемость – 843 мм. Преобладают восточные (22 %) и северо-восточные (20 %) ветры. Сильный ветер бывает 28–30 дней в году. Количество дней с суховеями – 10–19. Вероятность засух для большей части территории составляет 40–50 % лет [8].

Почва предгорной зоны – южный тяжелосуглинистый карбонатный чернозём, типичный для зоны, pH – 7,0–7,2, содержание гумуса в пахотном слое – 2,7–3,0 %, общего азота – 0,12 %, общего фосфора – 0,10 %, калия – 1,0 %; суммы поглощенных оснований – 27–32 мг/100 г абсолютно сухой почвы. Мощность гумусового горизонта достигает 35–60 см. Климат полусухой (ГТК – 0,89), теплый, с умеренно теплой и мягкой зимой. Средняя годовая температура воздуха – 9,8–8,5 °С. Максимальная температура летом достигает 26–28 °С, в отдельные годы – 34–40 °С. Средний из абсолютных годовых минимумов температуры – 11–18 °С. Безморозный период длится 184–238 дней. Годовая сумма осадков – 505 мм, испаряемость – 830 мм. Холодный период длится около 66 дней – с 25 декабря по 1 марта. Вегетационная оттепель характерна для 35–45 % зим. На территории региона преобладают ветры северо-восточного и юго-восточного направлений. Засухи бывают редко [8].

Почва опытных участков Ростовской области (г. Зерноград) – чернозём обыкновенный карбонатный тяжелосуглинистый мощный, обладающий значительной порозностью, аэрацией, газообменом, водопроницаемостью и влагоемкостью. Для почвы характерна высокая карбонатность (до 2,5–4,0 % CaO₃ в пахотном слое). Содержание гумуса – 3,6–4,0 %, подвижного фосфора – в пределах 20–23 мг/кг, обменного калия – 300–380 мг/кг почвы.

Климат района исследований континентальный, характеризуется полусухой жарким летом и умеренно мягкой зимой. Среднегодовое количество осадков составляет 544,6 мм с большими годовыми колебаниями – от 362 мм в 2007 г. до 786 мм в 1980 г. Две трети годовых осадков выпадает в период вегетации и носят ливневый характер. Сумма активных температур за период вегетации превышает 2800 °С. Средняя многолетняя температура воздуха составляет 9,7 °С. Гидротермический коэффициент – 0,80–0,85 (слабая степень засухи). С апреля по октябрь отмечается 60–65 суховейных дней. Продолжительность безморозного периода составляет 180–200 дней. Зима умеренно холодная, с оттепелями (25–30 дней), малоснежная с неустойчивым снежным покровом (высотой от 2 до 25 см). Среднесуточная температура воздуха в самом холодном месяце январе составляет –5 °С. Максимальное промерзание почвы достигает 20–40 см. Лето жаркое и сухое с максимальной температурой воздуха в отдельные дни до 35–45 °С, а на поверхности почвы до 45–65 °С. Средняя температура воздуха самого жаркого месяца июля составляет 22–24 °С [9].

Почва опытного участка Ставропольского края (г. Михайловск) – чернозём обыкновенный мощный малогумусный тяжелосуглинистый, сформированный на карбонатных лессовидных суглинках Центрального Предкавказья. Содержание гумуса в пахотном слое почвы 4,45 %, общего азота – 0,25 %, валового фосфора – 0,12 % подвижного фосфора и обменного калия соответственно 17 и 210 мг/кг почвы, pH – 7,3–7,5.

Климат опытного участка умеренно жаркий с умеренно мягкой зимой. Увлажнение неустойчивое, за год выпадает 450–550 мм осадков. Сумма активных температур за период вегетации – 3200–3400 °С. Гидротермический коэффициент – 0,9–1,1. Начало лета приходится на 10–16 мая. Среднемесячная температура июля – 22–24 °С. Максимальные температуры могут достигать 41–42 °С. Во время активной

вегетации выпадает 300–350 мм осадков. Число дней с суховеями – 60–80. Осенние заморозки наблюдаются с 15–20 октября, а в отдельные годы и в середине сентября. Продолжительность безморозного периода – 180–195 дней. Переход температуры через 0 °С (начало зимы) приходится на 3–5 декабря. Средняя месячная температура января составляет –3 (–5) °С, минимальная – –32 °С. Снежный покров неустойчив, высотой около 10 см, в отдельные годы достигает 80 см. Весна обычно наступает 7–9 марта. Весенние заморозки заканчиваются в середине апреля, а наиболее поздние могут быть в конце мая [10].

В процессе исследований использованы современные подходы изучения структуры ризосферного микробиома с использованием высокопроизводительного секвенирования библиотек гена 16S рРНК (таксономический анализ). Для этого выделена тотальная ДНК из почвенных образцов с помощью набора PowerSoil DNA Isolation Kit (Mo-Bio), на приборе Vortex Genee–2 (Mo-bio) по протоколу производителя. Очистку ДНК проводили электрофоретически с последующей экстракцией из агарозного геля [11]. Секвенирование проведено с помощью MySeq (Illumina). Использован таксономический и статистический анализ полученных результатов с использованием программных пакетов Bioconda [12], QIIME [13], PAST3 [14] и доступных интернет-ресурсов.

С целью ускорения селекционного процесса использован методический подход, который позволяет проводить общий отбор ассоциативных микроорганизмов для конкретных видов растений [15]. Использовали для выращивания растений системы сосудов Леонарда, обеспечивающие получение апикальной части корня, свободной от субстрата. Эта часть корня заселяется теми микроорганизмами, которые самостоятельно или во взаимодействии с другими способны ассоциироваться с корневой системой данного вида растения. А так как микроорганизмы и растение находятся во взаимодействии и взаимовлиянии друг на друга, создаются условия накопительной культуры микроорганизмов при селективном влиянии корневых экссудатов.

Результаты и их обсуждение

Ранее полученные данные по численности микроорганизмов основных эколого-трофических групп чернозема южного ризосферы *Triticum aestivum* предгорной и степной зоны показали среднюю и богатую степень обогащённости микроорганизмами, трансформирующими преимущественно органические соединения азота, среднюю – амилोलитиками. Степень обогащённости этих образцов автохтонной микробиотой, представленной олиготрофами и педотрофами, оценена как бедная и средняя [16].

Изменения состава микробных сообществ ризосферы вызывает тип почвы, вид растения и сорт [17, 18]. Результаты метагеномного анализа наших исследований также подтверждают влияние как сорта пшеницы, так и почвенно-климатических условий его выращивания на микробоценоз ризосферы. Доминировали среди прокариот чернозема южного представители 10 фил, доля которых составила более 1 %. Домен археи представлен *Crenarchaeota*, бактерии – *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Chloroflexi*, *Firmicutes*, *Gemmatimonadetes*, *Planctomycetes*, *Proteobacteria* и *Verrucomicrobia* (рисунок 1). Наряду с присутствием определённых фил выявлены представители неатрибутируемого домена прокариот, доля которого в образцах чернозёмов составляла 2,4–4,0 %. Наиболее высокая доля исследуемых сортов отмечена из филы *Proteobacteria*, при этом разница по почвам незначительна (Багира – 25,5–27,3 %, Ермак – 24,3–29,1 %, Лидия – 23,7–26,1 %).

Наиболее высокая доля представителей этих фил (кроме *Bacteroidetes*, *Chloroflexi* и *Proteobacteria*) и неатрибутируемого домена отмечена в чернозёме

южном степной зоне ризосферы сорта Лидия. Доля представителей *Bacteroidetes* отмечена максимальной в чернозёме обыкновенном (21,4 %) и близкой к предгорной зоне (20,3 %), тогда как в зоне степи она была меньше в 1,5 раза. В ризосфере сорта Ермак доля представителей этой филы в чернозёме обыкновенном составила 22,2 %, что больше в 1,4 раза чернозема южного Степи.

Среди минорных фил более высокие проценты доли отмечены в чернозёме обыкновенном и черноземе южном предгорной зоны. Например, доля представителей *Cyanobacteria* в чернозёме обыкновенном ризосферы сортов Лидия и Ермак составила соответственно 2,2 и 1,7 %, что в 2,3 и 1,8 раза выше, чем в черноземе южном предгорной зоны и в 5,2 и 4,1 раза в степи. Развитие автотрофных групп микроорганизмов может указывать на высокий уровень функционального разнообразия, ведущего к диверсификации экологических ниш [2].

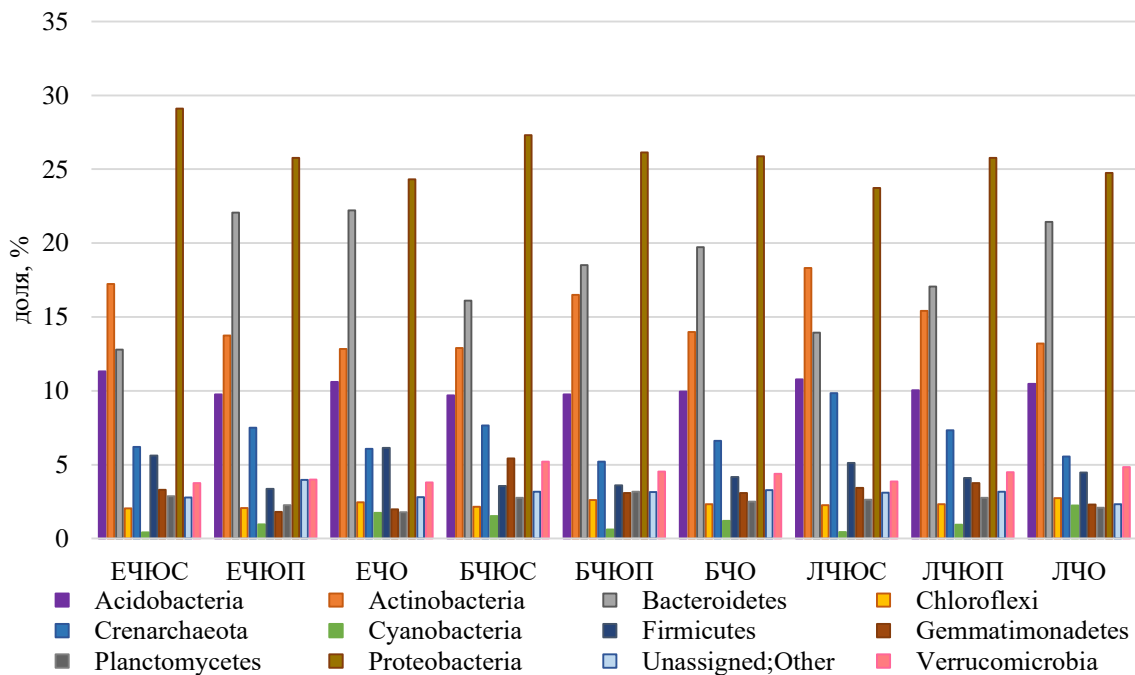


Рисунок 1 – Таксономическая структура мажорных компонентов на уровне фил прокариотного биома ризосферы сортов пшеницы, выращенных на различных типах чернозема

Примечание. Е – сорт Ермак, Б – сорт Багира, Л – сорт Лидия. ЧЮ – чернозем южный, С – чернозем степной зоны, П – чернозем предгорной зоны, ЧО – чернозём обыкновенный. NA – неатрибутированные рода, Other – другие последовательности, числовое значение при NA и Other – номер по порядку всех определенных ОТЕ (операционных таксономических единиц) в данном опыте.

Анализ ризосферы сорта Багира показал превышение доли *Crenarchaeota* (7,7 %) в 1,5 раза в черноземе южном степи над предгорной зоной и в 1,4 раза над чернозёмом обыкновенным. Здесь доля представителей филы *Bacteroidetes* отмечена максимальной также, как и у сортов Лидия и Ермак в чернозёме обыкновенном и составила 22,1 %, тогда как в зоне степи она была меньше в 1,4 раза. Напротив, наиболее высокая доля *Gemmatimonadetes* (5,4 %) отмечена в чернозёме южном степи, что в 3,2 раза больше, чем в чернозёме обыкновенном. Чернозём южный предгорной зоны отличался высокой долей *Planctomycetes*, составившей 3,2 %, что в 2,1 раза выше чернозема обыкновенного. Противоположные показатели представленности филы *Cyanobacteria* сортам Лидия и Ермак отмечены в ризосфере сорта Багира. Максимальная среди почвенных образцов доля их в чернозёме южном

Степи составила 1,5 %, что в 2,5 раза выше предгорной зоны и в 1,5 раза чернозема обыкновенного.

Фила *Actinobacteria* имеет большую долю в микробиомах почв сухого и теплого климата [19], что объясняется приспособленностью его представителей к сухим условиям [20]. В условиях степи, где ГТК самый низкий, их доля была выше, чем в других образцах, за исключением сорта Багира.

Фила *Firmicutes* в пахотных почвах представлена бактериями, способными разлагать сложные органические вещества [21]. Доля представителей данной филы у сорта Лидия не имела больших отличий в зависимости от условий выращивания и находилась в пределах от 4,5 % (чернозем обыкновенный) до 5,1 % (чернозем южный степи). В ризосфере сортов Багира и Ермак её показатели были максимальными в чернозёме обыкновенном 5,8 и 6,1 % соответственно, что в 1,6 и 1,8 раз выше чернозема южного предгорной зоны.

С апикальной части корня озимой пшеница мягкой сорта Багира, выращенной на черноземе южном степной зоны Крыма, выделено девять морфотипов микроорганизмов. Частота встречаемости морфотипов варьировала от 17 до 100 % и их обилие – от 0,1 до 31 %. У сорта Ермак выделено 14 морфотипов с таким же диапазоном частоты встречаемости и обилием в пределах 0,3–33 %. Следует отметить, что количество ассоциативных бактерий у этого сорта было максимальным, как и ризосферных микроорганизмов [16]. Минимальное количество морфотипов выделено с апикальной части корня пшеницы сорта Лидия. Пять морфотипов имели как высокую частоту встречаемости (83–100 %), так и обилие (10–35 %).

Проведена работа по очистке штаммов и их первичный скрининг в лабораторных условиях на проростках и вегетационных опытах на растениях пшеницы, который позволил выделить пять наиболее эффективных штаммов.

Изолированные из апикальной части корней пшеницы штаммы идентифицированы методом секвенирования гена 16S рРНК и принадлежали к видам из различных таксономических групп (таблица 1).

Метагеномный анализ ризосферы на представленность родов, которым соответствуют выделенные штаммы, показал наиболее высокую долю у рода *Bacillus* (1,24–2,89 %) (рисунок 2). У сортов Лидия и Ермак её максимальный показатель отмечен в чернозёме южном степной зоны, у сорта Багира в чернозёме обыкновенном. Доля рода *Pseudomonas* находилась в пределах 0,1–0,65 %. У сортов Ермак и Багира она была наиболее высокой в чернозёме южном степи, а у сорта Лидия – предгорной зоны. Представленность родов *Paenarthrobacter* и *Agrobacterium* была ещё на порядок ниже, а *Sinorhizobium* – на два-три порядка. Установлены различия в структуре микробиома в зависимости от сорта и условий выращивания.

Известно, что генотип растения может влиять на состав, таксономическую структуру микробиоценоза ризосферы и на показатели альфа- и бета- разнообразия сообщества [22, 23]. Анализ альфа-разнообразия различных почв показал богатство видового состава ризосферы сорта Багира в предгорной зоне чернозема южного, о чем свидетельствует более высокие (4,84) показатели индекса Шеннона (таблица 2). Индекс бета-разнообразия Уитакера на сорте Багира изменялся в зависимости от мест отбора, и имел наибольшие показатели на черноземе обыкновенном и южном Предгорья.

В целом, на уровне рода установлены изменения структуры ризосферы пшеницы, которые зависели от влияния почвенно-климатических условий и генотипа растений, что подтверждено статистическим анализом главных компонент микробиома (рисунок 3).

Таблица 1 – Идентификация штаммов, выделенных из апикальной части корней пшеницы

Штамм	Ближайший гомолог в ГенБанке	Уровень гомологии, %	Семейство	Класс	Фила
<i>Bacillus sp.</i> B5 [MH443749]	<i>Bacillus thuringiensis</i> ZLynn500-22 [KY316414.1]	99	<i>Bacillaceae</i>	<i>Bacilli</i>	<i>Firmicutes</i>
<i>Pseudarthrobacter oxydans</i> St1 [MH443750.1]	<i>Arthrobacter oxydans</i> Z1659 [EU086826.1]	99	<i>Microcossaceae</i>	<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinobacteria</i>
<i>Paenarthrobacter nitroguajacolicus</i> M3 [MH443746]	<i>Paenarthrobacter nitroguajacolicus</i> BF-R19 [KY292435.1]	99			
<i>Paenarthrobacter nitroguajacolicus</i> L1 [MH443747]	<i>Paenarthrobacter nitroguajacolicus</i> G2-1 [NR_027199.1]	99			
<i>Sinorhizobium meliloti</i> B2 [MH443743]	<i>Sinorhizobium meliloti</i> LCK12 [KU753918.1]	99	<i>Rhizobiaceae</i>	<i>Alpha-proteobacteria</i>	<i>Proteobacteria</i>
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> R1 [MH443751]	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> HAMB1 105 [LT899998.1]	99			
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> P3 [MH443752]	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 12D1 [CP033032.1]	100			
<i>Pseudomonas koreensis</i> V4 [MH443744]	<i>Pseudomonas koreensis</i> D26 [CP014947.1]	99	<i>Pseudomonadaceae</i>	<i>Gamma-proteobacteria</i> ^a	<i>Proteobacteria</i>
<i>Pseudomonas fluorescens</i> P4 [MH443745]	<i>Pseudomonas fluorescens</i> 90F12-2 [KT695840.1]	99			

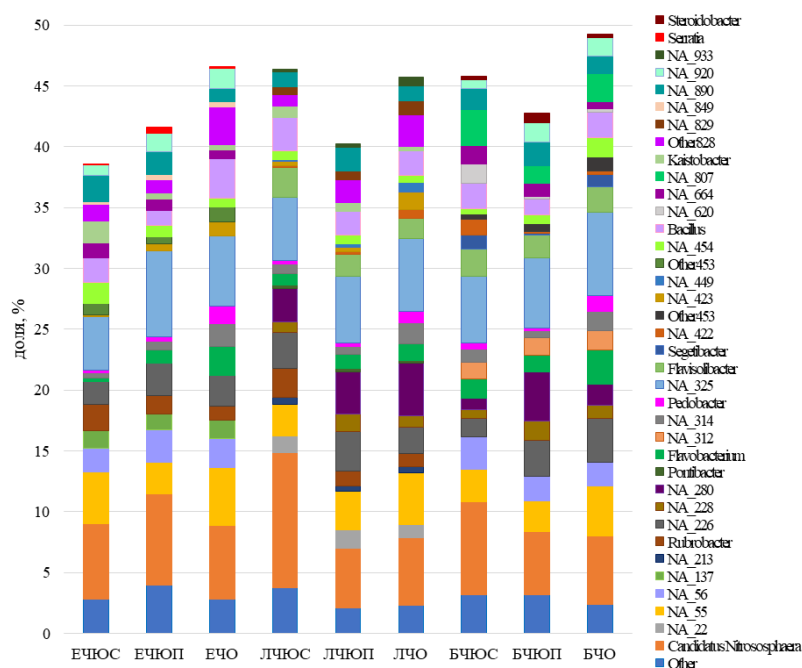


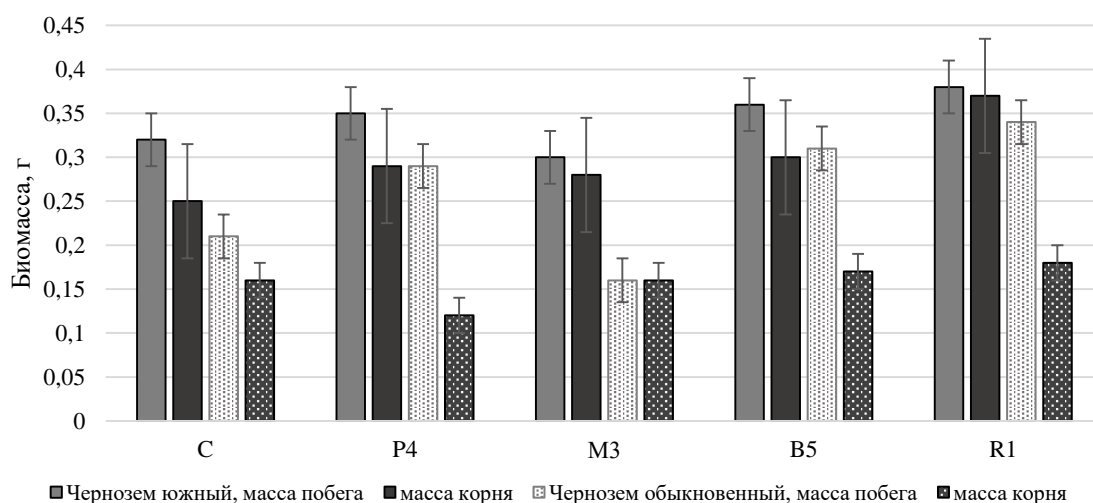
Рисунок 2 – Таксономическая структура (на уровне рода) микробиома ризосферы сортов пшеницы, выращенных на различных типах чернозема

Примечание. Е – сорт Ермак, Б – сорт Багира, Л – сорт Лидия. ЧЮ – чернозем южный, С – чернозем степной зоны, П – чернозем предгорной зоны, ЧО – чернозем обыкновенный. NA – неатрибутированные рода, Other – другие последовательности, числовое значение при NA и Other – номер по порядку всех определенных нами ОТЕ в данном опыте.

Таблица 2 – Значения индексов биоразнообразия в ризосфере сортов пшеницы, выращенных на различных черноземах (на уровне рода)

Индекс	Сорт пшеницы	Подтип чернозема		
		южный степи	южный предгорья	обыкновенный
Фишера	Багира	47,7 ± 1,3	50,6 ± 3,9	45,6 ± 2,8
	Лидия	52,0 ± 4,1	46,9 ± 4,3	45,1 ± 3,3
	Ермак	49,2 ± 3,2	51,1 ± 2,2	47,9 ± 3,7
Шеннона	Багира	4,72 ± 0,06	4,84 ± 0,04	4,71 ± 0,03
	Лидия	4,66 ± 0,10	4,74 ± 0,09	4,71 ± 0,03
	Ермак	4,78 ± 0,07	4,67 ± 0,04	4,61 ± 0,04
Маргалефа	Багира	34,3 ± 0,9	36,1 ± 2,5	32,9 ± 1,8
	Лидия	37,0 ± 2,7	33,8 ± 2,8	32,6 ± 2,2
	Ермак	35,3 ± 2,1	36,5 ± 1,4	34,4 ± 2,4
Выравненность	Багира	0,24 ± 0,02	0,26 ± 0,01	0,24 ± 0,02
	Лидия	0,21 ± 0,04	0,25 ± 0,03	0,25 ± 0,02
	Ермак	0,25 ± 0,03	0,21 ± 0,01	0,22 ± 0,03
Уиттакера	Багира	0,35	0,39	0,40
	Лидия	0,39	0,39	0,39
	Ермак	0,37	0,34	0,39
Количество таксонов	Багира	474,3 ± 12,0	500,0 ± 35,0	455,8 ± 25,0
	Лидия	512,8 ± 31,6	467,5 ± 33,0	451,5 ± 24,8
	Ермак	488,0 ± 28,4	504,8 ± 19,2	475,8 ± 33,1

Выделенные штаммы ассоциативных бактерий пшеницы показали различную эффективность на сортах при выращивании на черноземах южном и обыкновенном (рисунки 3–5). В условиях чернозема обыкновенного большинство исследованных штаммов положительно влияли на развитие растений сортов Багира и Лидия. Штаммы *Bacillus* sp. B5 и R1 обеспечили прирост биомассы сухого побега на 0,10 г (48 %) и 0,13 г (62 %) соответственно, по сравнению с контролем (0,21 г). Увеличение биомассы побега пшеницы сорта Лидия от 0,18 г (контроль) на 0,17 г (94 %) установлено при инокуляции штаммом M3 и на 0,13 г (72 %) – L1. Обработка штаммом P3 способствовала возрастанию как побега на 0,14 (78 %), так и сухого корня на 0,06 г (50 %). Положительного влияния штаммов на все сорта в чернозёме обыкновенном, как и на сорт Ермак в обеих почвах, не установлено.

Рисунок 3 – Влияние штаммов ассоциативных бактерий к *T. aestivum* сорта Багира на развитие растений

Примечание. C – контроль, P4 – *Pseudomonas fluorescens*, M3 – *Paenarthrobacter nitroguajacolicus*, B5 – *Bacillus* sp., R1 – *Agrobacterium tumefaciens*.

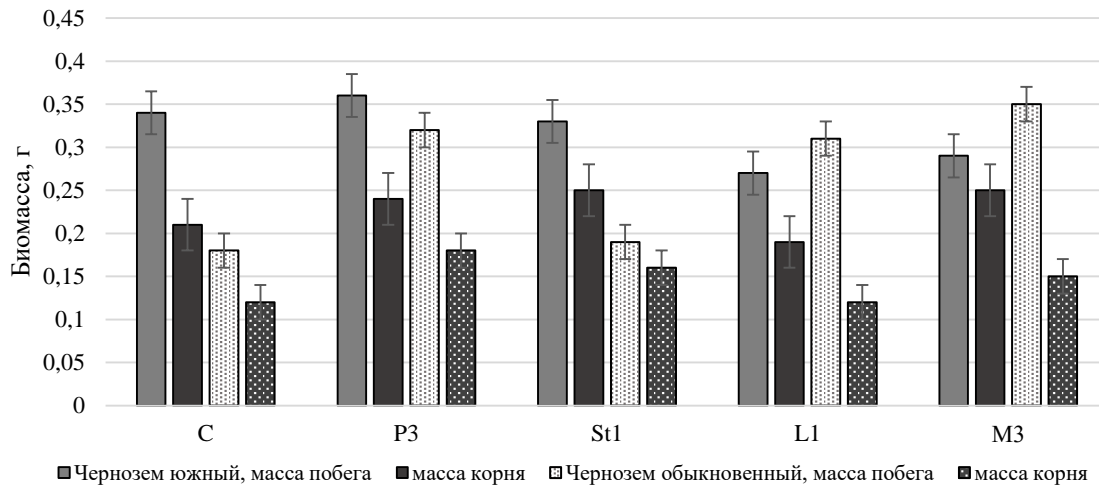


Рисунок 4 – Влияние штаммов ассоциативных бактерий к *T. aestivum* сорта Лидия на развитие растений

Примечание. C – контроль, P3 – *Agrobacterium tumefaciens*, St.1 – *Pseudarthrobacter oxydans*, M3 – *Paenarthrobacter nitroguajacolicus*, L1 – *Paenarthrobacter nitroguajacolicus*.

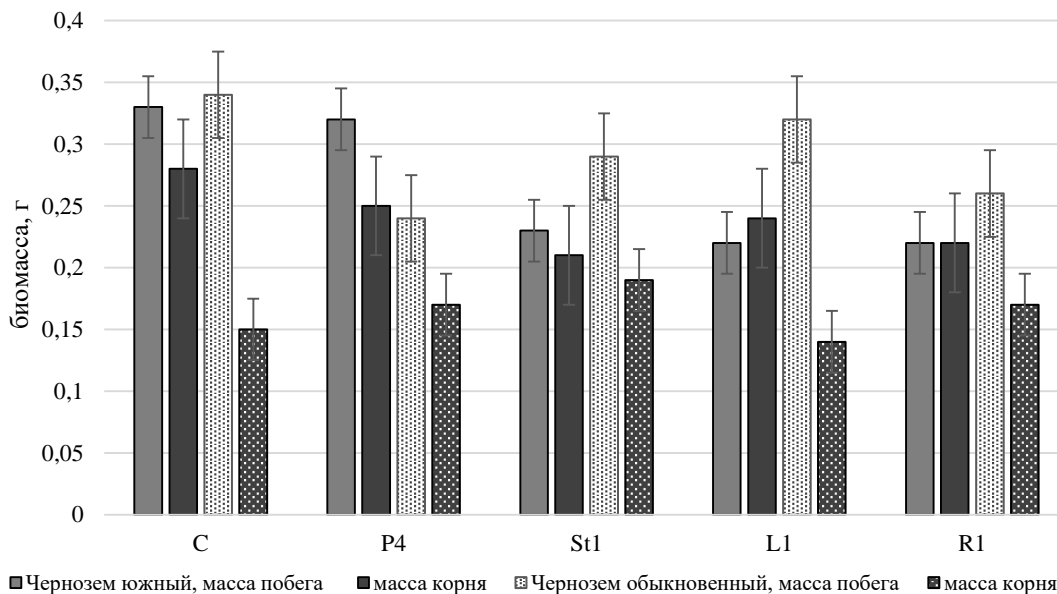


Рисунок 5 – Влияние штаммов ассоциативных бактерий к *T. aestivum* сорта Ермак на развитие растений

Примечание. C – контроль, P4 – *Pseudomonas fluorescens*, St.1 – *Pseudarthrobacter oxydans*, L1 – *Paenarthrobacter nitroguajacolicus*, R1 – *Agrobacterium tumefaciens*.

Выводы

Таким образом, определен таксономический состав микробиома черноземов южного и обыкновенного ризосферы трех сортов *T. aestivum*. Результаты метагеномного анализа показали влияние как сорта пшеницы, так и почвенно-климатических условий его выращивания на микробоценоз ризосферы. Доминировали среди прокариот чернозема южного представители 10 фил, доля которых составила более 1 %. Домен археи представлен *Crenarchaeota*, бактерии – *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Chloroflexi*, *Firmicutes*, *Gemmatimonadetes*,

Planctomycetes, *Proteobacteria* и *Verrucomicrobia*. Выявлены представители неатрибутируемого домена прокариот, доля которого в образцах чернозёмов составляла 2,4–4,0 %. Наиболее высокой долей у исследуемых сортов, отмечена фила *Proteobacteria*, при этом разница по почвам незначительна (Багира – 25,5–27,3 %, Ермак – 24,3–29,1%, Лидия – 23,7–26,1 %).

Среди ассоциативных бактерий к *T. Aestivum* выделено пять штаммов, перспективных для дальнейшей биотехнологии ризосферы агроценозов пшеницы. Идентификация их методом секвенирования гена 16S рРНК показала принадлежность к пяти видам из различных таксономических групп. Установлена различная эффективность штаммов на черноземах южном и обыкновенном. Штаммы *Bacillus* sp. B5 и *Agrobacterium tumefaciens* R1 обеспечили прирост биомассы побега сорта Багира в условиях чернозема обыкновенного 0,10 г (48 %) и 0,13 г (62 %) соответственно, по сравнению с контролем (0,21 г).

Работа выполнена в рамках государственного задания фундаментальных исследований № 0834-2015-0005 и при поддержке гранта РФФИ А18-016-00197.

Литература

1. Шапошников А. И., Пухальский Я. В., Кравченко Л. В., Белимов А. А. Роль корневой экссудации в трофических взаимодействиях растений с ризосферными микроорганизмами. СПб.: Информ-Навигатор, 2016. 104 с.
2. Основные достижения и перспективы почвенной метагеномики // Под ред. Першиной Е. В., Кутовой О. В., Когут Б. М., Андропова Е. Е. СПб.: Информ-Навигатор, 2017. 288 с.
3. Bru D., Ramette A., Saby N. P., Dequiedt S., Ranjard L., Jolivet C., Arrouays D., Philippot L. Determinants of the distribution of nitrogen-cycling microbial communities at the landscape scale // ISME J. 2011. Vol. 5. No. 3. P. 532–42.
4. Huang X. F., Chaparro J. M., Reardon K. F., Zhang R., Shen Q., Vivanco J. M. Rhizosphere interactions: root exudates, microbes, and microbial communities // Botany. Vol. 92. No. 4. 2014. P. 267–275.
5. Дмитричева Д. С., Яппаров А. Х., Дегтярева И. А. Ризосферные аборигенные микроорганизмы, способствующие росту и развитию растений // Ученые записки КГАВМ имени Н. Э. Баумана. 2011. № 207. С. 186–190.
6. Wu L., Wu H. J., Qiao J., Gao X., Borriss R. Novel routes for improving biocontrol activity of bacillus based bioinoculants // Front. Microbiol. 2015. Vol. 6. P. 1–13.
7. Fahad S., Hussain S., Bano A., Saud S., Hassan S., Shan D., Khan F.A., Khan F., Chen Y., Wu C., Tabassum M. A., Chun M. X., Afzal M., Jan A., Jan M. T., Huang J. Potential role of phytohormones and plant growth-promoting rhizobacteria in abiotic stresses: consequences for changing environment // Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 2015. Vol. 22. No. 7. P. 4907–4921.
8. Паштецкий В. С. Научные основы оптимизации агроландшафтов и эффективного аграрного производства Республики Крым. Симферополь: ИТ «Ариал», 2015. 276 с.
9. Филиппов Е. Г., Донцова А. А. Селекция озимого ячменя. Ростов-на-Дону: ЗАО «Книга», 2014. 208 с.
10. Драгавцева И. А., Савин И. Ю., Овечкин С. В., Смирнова Л. А., Желнакова Л. И., Марченко Н. Н., Каторгин И. Ю., Антонов С. А., Андреев Д. Ю. Анализ ресурсного потенциала земель Ставропольского края для возделывания плодовых культур. М.: ФГНУ «Росинформагротех», 2007. 192 с.
11. Андронов Е. Е., Пинаев А. Г., Першина Е. В. Выделение ДНК из образцов почвы. СПб.: ПК «Объединение Вента», 2011. 27 с.
12. Grüning B., Dale R., Sjödin A., Chapman B.A., Rowe J., Tomkins-Tinch C.H., Valieris R., Bioconda Team, Köster J. Bioconda: sustainable and comprehensive software distribution for the life sciences // Nature Methods. 2018. Vol. 15. P. 475–476.
13. Caporaso J. G., Kuczynski J., Stombaugh J., Bittinger K., Bushman F. D., Costello E. K., Fierer N., Pena A. G., Goodrich J. K., Gordon J. I., Huttley G. A., Kelley S. T., Knights D., Koenig J. E., Ley R. E., Lozupone C. A., McDonald D., Muegge B. D., Pirrung M., Reeder J., Sevinsky J. R., Turnbaugh P. J., Walters W. A., Widmann J., Yatsunenkov T., Zaneveld J., Knight R. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data // Nature methods. 2010. Vol. 7. P. 335–336. [Электронный ресурс]. DOI:10.1038/nmeth.f.303 (дата обращения 04.12.2018).
14. Hammer O., Harper D. A. T., Ryan P. D. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis // Palaeontologia Electronica. 2001. Vol. 4. No. 1. 9 p.

15. Экспериментальна ґрунтова мікробіологія: монографія // Под ред. Волкогона В. В. К.: Аграрна наука. 2010. С. 198–208.
16. Мельничук Т. Н., Еговцева А. Ю., Абдурашитов С. Ф., Абдурашитова Э. Р., Радченко А. Ф., Ганоцкая Т. Л., Радченко Л. А. Микробоценоз чернозема южного ризосферы *Triticum aestivum* L. // Современное состояние чернозёмов: материалы II Международной научной конференции. Т. 1. Ростов-на-Дону: Южный федеральный университет, 2018. С. 432–438.
17. Bulgarelli D., Garrido-Oter R., Münch P. C., Weiman A., Dröge J., Pan Y., McHardy A. C., Schulze-Lefert P. Structure and function of the bacterial root microbiota in wild and domesticated barley // *Cell Host Microbe*. 2015. Vol. 17. No. 3. P. 392–403.
18. Donn S., Kirkegaard J., Perera G., Richardson A.E., Watt M. Evolution of bacterial communities in the wheat crop rhizosphere // *Environ Microbiol*. Vol. 17. No 3. 2015. P. 610–621.
19. Ventura M., Canchaya C., Tauch A., Chandra G., Fitzgerald G. F., Chater K. F., van Sinderen D. Genomics of Actinobacteria: tracing the evolutionary history of an ancient phylum // *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2007. Vol. 71. No. 3. P. 495–548.
20. Манучарова Н. А., Власенко А. Н., Менько Е. В., Звягинцев Д. Г. Специфика хитиноподобного микробного комплекса в почвах, инкубируемых при различных температурах // *Микробиология*. 2011. Т. 80. № 2. С. 219–229.
21. Hartmann M., Frey B., Mayer J., Mäder P., Widmer F. Distinct soil microbial diversity under long-term organic and conventional farming // *ISME J*. 2015. Vol. 9. No. 5. P.1177–1194.
22. Winston M., Hampton-Marcell J., Zarraonaindia I., Owens S. M., Moreau C. S., Gilbert J. A., Hartsel J., Kennedy S. J., Gibbons S. M. Understanding cultivar-specificity and soil determinants of the cannabis microbiome // *Plos One*. 2014. Vol. 9. No. 6. [Электронный ресурс]. DOI:10.1371/journal.pone.009964199641 (дата обращения 02.12.2018).
23. Edwards J., Johnson C., Santos-Medellin C., Lurie E., Podishetty N., Bhatnagar S., Eisen J., Sundaresan V. Structure, variation, and assembly of the root-associated microbiomes of rice // *Proc Natl Acad Sci. USA*, 2015. Vol. 112. No. 8. P. 911–920.

References

1. Shaposhnikov A. I., Puhalsky Ya. V., Kravchenko L. V., Belimov A. A. Role of root exudation in trophic interactions of plants with rhizosphere microorganisms. Saint-Petersburg: Inform-Navigator, 2016. 104 p.
2. The main achievements and prospects of soil metagenomics // Ed. By Pershina E. V., Kutovaya O. V., Kogut B. M., Andronov E. E. Saint-Petersburg: Inform Navigator, 2017. 288 p.
3. Bru D., Ramette A., Saby N. P., Dequiedt S., Ranjard L., Jolivet C., Arrouays D., Philippot L. Determinants of the distribution of nitrogen-cycling microbial communities at the landscape scale // *ISME J*. 2011. Vol. 5. No. 3. P. 532–542.
4. Huang X. F., Chaparro J. M., Reardon K. F., Zhang R., Shen Q., Vivanco J. M. Rhizosphere interactions: root exudates, microbes, and microbial communities // *Botany*. 2014. Vol. 92. No. 4. P. 267–275.
5. Dmitricheva D. S., Yapparov A. Kh., Degtyareva I. A. Rhizosphere native microorganisms promoting plant growth and development // *Uchenye zapiski Kazan State Academy of Veterinary Medicine named N.E. Bauman*. 2011. No. 207. P. 186–190.
6. Wu L., Wu H. J., Qiao J., Gao X., Borriss R. Novel routes for improving biocontrol activity of bacillus based bioinoculants // *Front. Microbiol*. 2015. Vol. 6. P. 1–13.
7. Fahad S., Hussain S., Bano A., Saud S., Hassan S., Shan D., Khan F.A., Khan F., Chen Y., Wu C., Tabassum M. A., Chun M. X., Afzal M., Jan A., Jan M. T., Huang J. Potential role of phytohormones and plant growth-promoting rhizobacteria in abiotic stresses: consequences for changing environment // *Environ. Sci. Pollut. Res. Int*. 2015. Vol. 22. No. 7. P. 4907–4921.
8. Pashtetsky V. S. Scientific basis for the optimization of agricultural landscapes and efficient agricultural production of the Republic of Crimea. Simferopol: Publishing house “Ariol”, 2015. 276 p.
9. Filippov E. G., Dontsova A. A. Breeding of winter barley. Rostov-on-Don: ZAO “Kniga”, 2014. 208 p.
10. Dragavtseva I. A., Savin I. Yu., Ovechkin S. V., Smirnova L. A., Zhelnakova L. I., Marchenko N. N., Katorgin I. Yu., Antonov S. A., Andreyanov D. Yu. Analysis of the resource potential of the lands of the Stavropol Territory for the cultivation of fruit crops. Moscow: FGNU “Rosinformagrotekh”, 2007. 192 p.
11. Andronov E. E., Pinaev A. G., Pershina E. V. DNA extraction from soil samples. Saint-Petersburg: Publishing house “Venta Association”, 2011. 27 p.
12. Grüning B., Dale R., Sjödin A., Chapman B. A., Rowe J., Tomkins-Tinch C. H., Valieris R., Bioconda Team, Köster J. Bioconda: sustainable and comprehensive software distribution for the life sciences // *Nature Methods*. 2018. Vol. 15. P. 475–476.
13. Caporaso J. G., Kuczynski J., Stombaugh J., Bittinger K., Bushman F. D., Costello E. K., Fierer N., Pena A. G., Goodrich J. K., Gordon J. I., Huttley G. A., Kelley S. T., Knights D., Koenig J. E., Ley R. E., Lozupone C. A., McDonald D., Muegge B. D., Pirrung M., Reeder J., Sevinsky J. R., Turnbaugh P.J., Walters W.A.,

Widmann J., Yatsunenکو T., Zaneveld J., Knight R. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data // Nature methods. 2010. Vol. 7. P. 335–336. [Electronic recourse]. DOI:10.1038/nmeth.f.303 (reference's date 04.12.2018).

14. Hammer O., Harper D. A. T., Ryan P. D. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis // Palaeontologia Electronica. 2001. Vol. 4. No. 1. 9 p.

15. Experimental soil Microbiology: monograph. For the sciences // Ed. By Volkogon V. V. Kiev: Agrarian Science, 2010. P. 198–208.

16. Melnichuk T. N., Egovtseva A. Yu., Abdurashitov S. F., Abdurashitova E. R., Radchenko A. F., Ganotskaya T. L., Radchenko L. A. Microbiocenosis of the chernozem of the southern rhizosphere of *Triticum aestivum* L. // Current State of Black Soil: Proceedings of the II International Scientific Conference. Vol. 1. Rostov-on-Don: South Federal University, 2018. P. 432–438.

17. Bulgarelli D., Garrido-Oter R., Münch P. C., Weiman A., Dröge J., Pan Y., McHardy A.C., Schulze-Lefert P. Structure and function of the bacterial root microbiota in wild and domesticated barley // Cell Host Microbe. 2015. Vol. 17. No. 3. P. 392–403.

18. Donn S., Kirkegaard J., Perera G., Richardson A. E., Watt M. Evolution of bacterial communities in the wheat crop rhizosphere // Environ Microbiol. 2015. Vol. 17. No. 3. P. 610–621.

19. Ventura M., Canchaya C., Tauch A., Chandra G., Fitzgerald G. F., Chater K. F., van Sinderen D. Genomics of Actinobacteria: tracing the evolutionary history of an ancient phylum // Microbiology and Molecular Biology Reviews. 2007. Vol. 71. No. 3. P. 495–548.

20. Manucharova N. A., Vlasenko A. N., Menko E. V., Zvyagintsev D. G. Specificity of the chitinolytic microbial complex in soils incubated at different temperatures // Microbiology. 2011. Vol. 80. No. 2. P. 219–229.

21. Hartmann M., Frey B., Mayer J., Mäder P., Widmer F. Distinct soil microbial diversity under long-term organic and conventional farming // ISME J. 2015. Vol. 9. No. 5. P. 1177–1194.

22. Winston M., Hampton-Marcell J., Zarraonaindia I., Owens S. M., Moreau C. S., Gilbert J. A., Hartsel J., Kennedy S. J., Gibbons S. M. Understanding Cultivar-Specificity and Soil Determinants of the Cannabis microbiome // Plos One. 2014. Vol. 9. No. 6. [Electronic recourse]. DOI:10.1371/journal.pone.0099641 (reference's date 04.12.2018).

23. Edwards J., Johnson C., Santos-Medellín C., Lurie E., Podishetty N., Bhatnagar S., Eisen J., Sundaresan V. Structure, variation, and assembly of the root-associated microbiomes of rice // Proc Natl Acad Sci. USA. 2015. Vol. 112. No. 8. P. 911–920.

UDC 631.461:579.64

Melnichuk T. N., Egovtseva A. Yu., Abdurashitov S. F., Andronov E. E., Abdurashitova E. R., Radchenko A. F., Ganotskaya, T. L., Radchenko L. A.

ASSOCIATIVE TO *TRITICUM AESTIVUM* L. BACTERIA FROM CHERNOZEMS SOUTHERN AND ORDINARY

Summary. Currently, a promising area of research is the development of rhizosphere biotechnologies using associative bacteria to a particular plant species, which can increase their potential and quality, which in turn contributes to the stability of agroecosystems and preservation of the environment. The aim of the research was to study the wheat rhizosphere microbiome and strains of associative bacteria isolated from different varieties grown on southern and ordinary chernozems. The studies were carried out in 2018 on three winter wheat varieties (*Triticum aestivum* L.) 'Bagheera', 'Lydia' and 'Ermak'. Modern approaches to the study of the taxonomic structure of the rhizosphere microbiome using high-throughput sequencing of the 16S rRNA gene libraries were used in the process of research. The community of prokaryotes of rhizosphere chernozem mainly consisted of representatives of 10 phyla: Crenarchaeota from the archaea and bacterium domain: Acidobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes, Chloroflexi, Firmicutes, Gemmatimonadetes, Planctomycetes, Proteobacteria and Verrucomicrobia. Representatives of the non-attributable domain of prokaryotes, the share of which in the samples of chernozem was 2.4–4.0 %, were identified. Phylum Proteobacteria had the highest proportion in the studied varieties, and the difference in soils was insignificant ('Bagheera' – 25.5–27.3 %, 'Ermak' – 24.3–29.1 %, 'Lydia' – 23.7–26.1 %). Five new strains of associative to wheat bacteria

identified by the method of sequencing the 16S rRNA gene belonged to five species from different taxonomic groups and showed different efficacy on southern and ordinary chernozems. Strains of *Bacillus* sp. B5 and *Agrobacterium tumefaciens* R1 provided an increase in shoot biomass of the 'Bagheera' variety on ordinary chernozem by 0.10 g (48 %) and 0.13 g (62 %), respectively, compared to the control (0.21 g). Thus, changes in the taxonomic composition of the southern and ordinary chernozems rhizosphere of three wheat varieties had been determined under the influence of both variety and the soil and climatic conditions. Five strains of associative bacteria were identified. They are promising for further biotechnology of the rhizosphere of agrocenoses.

Keywords: associative bacteria, *Triticum aestivum* L., chernozems southern, chernozems ordinary.

Мельничук Татьяна Николаевна, доктор сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник, главный научный сотрудник лаборатории молекулярной и клеточной биологии ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»; 295453, Россия, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Киевская, 150; e-mail: melnichuk7@mail.ru.

Еговцева Анна Юрьевна, научный сотрудник лаборатории молекулярной и клеточной биологии ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»; 295453, Россия, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Киевская, 150; e-mail: eau82@mail.ru.

Абдурашитов Сулейман Февзиевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной и клеточной биологии ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»; 295453, Россия, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Киевская, 150; e-mail: asuleyman83@rambler.ru.

Андронов Евгений Евгеньевич, доктор биологических наук, заведующий лабораторией микробиологического мониторинга и биоремедиации почв ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии»; 196608, Россия, г. Санкт-Петербург, г. Пушкин, шоссе Подбельского, 3, e-mail: eeandr@gmail.ru.

Абдурашитова Эльвина Расимовна, научный сотрудник лаборатории молекулярной и клеточной биологии ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»; 295453, Россия, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Киевская, 150; e-mail: elvi-jadore@mail.ru.

Радченко Александр Федорович, старший научный сотрудник лаборатории семеноводства и сортоизучения новых генотипов отдела интродукции и технологий в полеводстве и животноводстве, ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма», г. Симферополь, ул. Киевская, 150; e-mail: o-radchenko@ukr.net.

Ганоцкая Татьяна Леонидовна, младший научный сотрудник лаборатории семеноводства и сортоизучения новых генотипов отдела интродукции и технологий в полеводстве и животноводстве, ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма», г. Симферополь, ул. Киевская, 150; e-mail: ganotskaya.tanya@mail.ru

Радченко Людмила Анатольевна, кандидат сельскохозяйственных наук, заместитель директора по научной работе ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма», г. Симферополь, ул. Киевская, 150; e-mail: l-radchenko@ukr.net.

Melnichuk Tatyana Nikolaevna, Dr. Sc. (Agr.), senior researcher, chief researcher of the Laboratory of molecular and cellular biology of FSBSI "Research Institute of Agriculture of Crimea"; 150, Kievskaya str., Simferopol, Republic of Crimea, 295493, Russia; e-mail: melnichuk7@mail.ru.

Egovtseva Anna Yurievna, researcher of the Laboratory of molecular and cellular biology of FSBSI "Research Institute of Agriculture of Crimea"; 150, Kievskaya str., Simferopol, Republic of Crimea, 295493, Russia; e-mail: eau82@mail.ru.

Abdurashitov Suleiman Fevziyevich, Cand. Sc. (Biol.), senior researcher of the Laboratory of molecular and cellular biology of FSBSI "Research Institute of Agriculture of Crimea"; 150, Kievskaya str., Simferopol, Republic of Crimea, 295493, Russia; e-mail: asuleyman83@rambler.ru.

Andronov Evgeniy Evgenievich, Dr. Sc. (Biol.), head of the Laboratory of microbiological monitoring and soil bioremediation of FSBSI "All-Russian Research Institute of Agricultural Microbiology"; 3, Podbelskogo Highway, Pushkin, St. Petersburg, 196608, Russia; e-mail: eeandr@gmail.ru.

Abdurashitova Elvina Rasimovna, researcher of the Laboratory of molecular and cellular biology of FSBSI “Research Institute of Agriculture of Crimea”; 150, Kievskaya str., Simferopol, Republic of Crimea, 295493, Russia; e-mail: elvi-jadore@mail.ru.

Radchenko Aleksandr Fedorovich, senior researcher of the Laboratory of seed growing and strain investigation of new genotypes of the Department of introductions and technologies in agriculture and livestock farming, FSBSI “Research Institute of Agriculture of Crimea”; 150, Kievskaya str., Simferopol, Republic of Crimea, 295493, Russia; e-mail: o-radchenko@ukr.net.

Ganotskaya Tatyana Leonidovna, junior researcher of the Laboratory of seed growing and strain investigation of new genotypes of the Department of introductions and technologies in agriculture and livestock farming, FSBSI “Research Institute of Agriculture of Crimea”; 150, Kievskaya str., Simferopol, Republic of Crimea, 295493, Russia; e-mail: ganotskaya.tanya@mail.ru.

Radchenko Ludmila Anatolievna, Cand. Sc. (Agr.), deputy director for scientific work, FSBSI “Research Institute of Agriculture of Crimea”; 150, Kievskaya str., Simferopol, Republic of Crimea, 295493, Russia; e-mail: l-radchenko@ukr.net.

Дата поступления в редакцию – 09.10.2018.

Дата принятия к печати – 11.11.2018.