

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
НАУКИ
«НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ СЕЛЬСКОГО
ХОЗЯЙСТВА КРЫМА»

На правах рукописи



Еговцева Анна Юрьевна

**БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЧЕРНОЗЕМОВ И
ПРОДУКТИВНОСТЬ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ ПРИ ИНОКУЛЯЦИИ
АССОЦИАТИВНЫМИ РИЗОБАКТЕРИЯМИ**

4.1.3. Агрохимия, агропочвоведение, защита и карантин растений

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель –
член-корр. РАН, доктор с.-х. наук
Паштецкий Владимир Степанович

Симферополь – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	12
1.1 Агроэкологическое состояние черноземов как среда формирования их биологической активности	12
1.2 Биологическая активность черноземов как агрохимический показатель, определяемый по численности и структуре микробоценоза.....	16
1.3 Инокуляция ассоциативными ризобактериями как агрохимический прием повышения продуктивности.....	19
1.4 Механизмы растительно-микробного взаимодействия как основа агрохимической эффективности ассоциативных ризобактерий	22
ГЛАВА 2 ОБЪЕКТЫ, УСЛОВИЯ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	28
ПРОВЕДЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	28
2.1 Объекты исследования	28
2.2 Метеорологические условия вегетационного периода озимой пшеницы 2018-2021 гг. в полевых исследованиях на черноземе южном степной зоны Крыма	33
2.3 Микробиологические, молекулярно-генетические и агрохимические методы	36
2.4 Агротехника проведения полевых опытов.....	41
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.....	43
3.1 Исходная биологическая активность черноземов разного типа в ризосфере районированных сортов озимой пшеницы	43
3.2 Таксономическая структура прокариотного сообщества черноземов как основа их биологической активности	49
3.3 Выделение и молекулярно-генетическая идентификация ассоциативных штаммов ризобактерий с высоким агрохимическим потенциалом	53

3.4 Влияние инокуляции ассоциативными ризобактериями на биологическую активность чернозема южного и продуктивность пшеницы озимой.....	60
3.4.1 Изменение численности эколого-трофических групп микроорганизмов и направленности минерализационных процессов в ризосфере под влиянием инокуляции	60
3.4.2 Трансформация таксономической структуры микробиома ризосферы под влиянием инокуляции (метагеномный анализ)	72
3.4.3 Агрохимическая эффективность инокуляции и ее влияние на биометрические показатели, продуктивность, структуру урожая	100
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	116
РЕКОМЕНДАЦИИ ПРОИЗВОДСТВУ	119
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ	120
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	121
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	122
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	153
ПРИЛОЖЕНИЕ А	154
ПРИЛОЖЕНИЕ Б.....	155
ПРИЛОЖЕНИЕ В	156
ПРИЛОЖЕНИЕ Г.....	157
ПРИЛОЖЕНИЕ Д	158
ПРИЛОЖЕНИЕ Е.....	159

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Главной задачей сохранения плодородия почвы и ее биологического потенциала является увеличение почвенного биоразнообразия [80]. Экологическая ситуация в современном земледелии характеризуется высоким уровнем антропогенного воздействия на агроэкосистемы, что сопряжено с деградацией почвенного плодородия. Применение биологически и экологически обоснованных агротехнологий способствует увеличению количества и повышению качества продукции, за счет рационального использования естественных ресурсов экосистем, что позволяет максимально снизить нагрузки на окружающую среду и обеспечивает ее сохранность [100]. Важной задачей это является и для такой сельскохозяйственной культуры, как пшеница озимая мягкая (*Triticum aestivum* L.), которая является основной зерновой культурой в мире и играет ключевую роль в экономике сельского хозяйства. В России на нее приходится около 38 % всех посевов, выделенных под зерновые.

Антропогенная нагрузка на агроэкосистемы приводит к нарушению естественных процессов в почве и снижению биологической активности в системе микроорганизмы – растение – почва [83; 233]. Микробные биотехнологии ризосферы растений способны активизировать природные механизмы, направленные на повышение продуктивности агроценозов и сохранение плодородия почв [93; 96]. Микроорганизмы прикорневой зоны растений способны значительно влиять на продукционный процесс у растений и качество растительной продукции. Интродукция ассоциативных ризобактерий, способных активно заселять ризосферу и ризоплану растений, используя питательные вещества корневых экзометаболитов, является эффективным инструментом стимуляции роста растений и биологической защиты их от патогенов [11; 146].

Исследование становления и функционирования продуктивной системы «микроорганизмы – растение» дает возможность обнаружить новые свойства ее отдельных компонентов и углубить представление механизмов ассоциативной взаимосвязи. Создание таких эффективных систем, приспособленных к почвенно-климатическим условиям, способствует повышению почвенного биологического разнообразия, экологической безопасности и устойчивому развитию агроэкосистем.

Степень разработанности темы. На сегодняшний день спектр бактерий, способных оказывать положительное влияние на растения, расширяется благодаря активным исследованиям в данной области. В многочисленных научных работах отечественных и зарубежных авторов [15; 82; 85; 87; 89; 109; 111; 145; 156; 167] обсуждаются механизмы положительного действия ризосферных микроорганизмов на растительный организм и специфичность микробных сообществ ризосферы, которая во многом определяется количественным и качественным составом корневых экссудатов, зависящим от вида, возраста, условий выращивания растения, а также от влияния комплекса почвенно-климатических факторов [90; 215]. Применение штаммов микроорганизмов с высоким ассоциативным потенциалом служит одним из перспективных подходов в развивающемся устойчивом экологически направленном земледелии [100; 131; 212]. Однако вопрос о взаимоотношениях микроорганизмов и растений в ризосферных ассоциациях под влиянием различных почвенно-климатических условий требует дальнейшего фундаментального изучения.

Цель исследования – изучить биологическую активность черноземов (южного и обыкновенного), оценить изменения микробиологических и агрохимических свойств чернозема южного при предпосевной инокуляции семян озимой пшеницы ассоциативными штаммами ризобактерий и установить их влияние на продуктивность перспективных сортов озимой пшеницы.

Задачи исследования:

1. Оценить уровень биологической активности черноземов южного и обыкновенного в ризосфере районированных сортов озимой пшеницы по показателям численности основных эколого-трофических групп микроорганизмов и таксономической структуре прокариотного сообщества.
2. Выделить из апикальной части корней озимой пшеницы и идентифицировать ассоциативные штаммы ризобактерий с высоким ростстимулирующим потенциалом, перспективные для использования в качестве агентов биопрепаратов.
3. Изучить влияние предпосевной инокуляции семян выделенными штаммами на изменение численности таксономически и функционально значимых групп микроорганизмов и направленность минерализационных процессов в ризосфере чернозема южного степной зоны.
4. Провести метагеномный анализ таксономической структуры микробиома ризосферы и выявить изменения в представленности ключевых таксонов под влиянием инокуляции ассоциативными штаммами в контрастных по увлажнению условиях чернозема южного.
5. Оценить влияние инокуляции ассоциативными штаммами ризобактерий на агрохимические свойства почвы, продуктивность сортов озимой пшеницы по комплексу показателей (биомасса растений, элементы структуры урожая и урожайность зерна).
6. Определить степень влияния факторов «сорт пшеницы», «штамм-инокулянт» и «условия года» на формирование урожайности озимой пшеницы, установить корреляционные связи между показателями биологической активности чернозема южного степной зоны Крыма и продуктивностью.

Научная новизна результатов исследования. Впервые проведен скрининг аборигенной почвенной микробиоты для выделения ассоциативных микроорганизмов к озимой пшенице и создание растительно-микробных систем с подбором сортов, выращиваемых в конкретных условиях почвенно-климатической зоны с применением модифицированного методического

подхода. Определены факторы, влияющие на изменения численности микроорганизмов эколого-трофических групп и таксономической структуры микробиома ризосферы *T. aestivum*. Установлено, что ризоплана пшеницы озимой является экологической нишей для штаммов микроорганизмов с высоким ассоциативным потенциалом к растениям. Анализ штаммов, продемонстрировавших высокий ассоциативный потенциал в модельных и полевых опытах, с использованием полногеномного секвенирования показал функциональные особенности генома, ответственные за данный фенотип. Выявлено наличие группы генов, отвечающих за синтез ауксинов, у штамма *Paenarthrobacter nitroguajacolicus* L1 их максимальное количество (9), что позволяет объяснить его адаптации ко всем исследуемым сортам пшеницы озимой в благоприятных для растений погодных условиях. Показано, что изменение микробиома чернозема южного под влиянием инокуляции – эффективный агрохимический прием для повышения плодородия почвы и урожайности пшеницы.

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные результаты способствуют углублению знаний о формировании и функционировании системы «микроорганизмы – озимая пшеница» на черноземах. Метагеномный анализ микробиома ризосферы пшеницы озимой выявил, что почвенно-климатические условия оказывали более выраженное влияние на долю фил представленностью более 1%, чем фактор Сорт. Филы с меньшей долей (до 1 %), напротив, сильнее реагировали на сортовые различия.

Создана коллекция штаммов с молекулярно-генетической характеристикой, которые могут составить основу эффективных для фитоагроценозов биопрепаратов. Работа в целом способствует разработке эффективных методов получения и идентификации штаммов микроорганизмов с высоким ассоциативным потенциалом к сельскохозяйственным культурам агроценозов и адаптированных к почвенно-климатическим условиям для повышения экологической безопасности сельскохозяйственного производства.

Результаты исследований включены в курс лекций при разработке рабочей программы по дисциплине «Растительно-микробное взаимодействие», которая реализуется в рамках Основной профессиональной образовательной программы высшего образования – программы подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма» по направлению подготовки 06.06.01 Биологические науки (акт внедрения от 02.10.2026 г.), а также в научно-производственную деятельность ФГБНУ «Федеральный научный центр биологической защиты растений» (акт внедрения от 07.10.2026).

Методология и методы исследования. Методическая и теоритическая база исследования сформирована на основе работ российских и зарубежных ученых. Для решения поставленных задач использовали стандартные и современные методы: микробиологические, молекулярно-генетические, агрохимические, статистические и полевого эксперимента.

Положения, выносимые на защиту:

1. Состав микробных сообществ ризосферы растений зависят от сорта пшеницы озимой и почвенно-климатических условий ее выращивания.
2. Ризосфера пшеницы озимой является экологической нишей для эффективных штаммов микроорганизмов с высоким ассоциативным потенциалом *Bacillus wiedmannii*, *Paenarthrobacter nitroguajacolicus*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Pseudomonas fluorescens*.
3. Ассоциативные штаммы бактерий к *T. aestivum* влияют на изменения численности микроорганизмов эколого-трофических групп, таксономической структуры микробиома, агрохимические показатели ризосферы и продукционный процесс у растений пшеницы озимой в условиях чернозема южного.
4. Внесение штаммов микроорганизмов с высоким ассоциативным потенциалом к пшенице озимой в ризосферу является эффективным биологическим средством оптимизации питания растений для экологически

ориентированного земледелия и управления продуктивностью агрофитоценозов.

Степень достоверности и апробация работы. Диссертационная работа выполнена на высоком научно-методическом уровне. Достоверность результатов, полученных в процессе исследования подтверждена биоинформационными и молекулярно-генетическими методами, а также проведенным статистическим анализом. Изложенные в диссертационном исследовании положения и выводы являются достоверными.

Результаты исследований доложены и обсуждены на международных конференциях «International Scientific Conference on Microbial Biotechnology» (Chisinau, Moldova, IMBSMM, 2018 г.); «Современное состояние черноземов» (г. Ростов-на-Дону, ЮФУ, 2018 г.); «Современное состояние, проблемы и перспективы развития аграрной науки» (г. Симферополь, ФГБУН «НИИСХ Крыма» 2018 г.; г. Ялта, 2019 г.; г. Симферополь, 2026 г.); PLAMIC 2020/2022 «Растения и микроорганизмы: биотехнология будущего» (г. Саратов, ИБФРМ РАН, 2020 г.; Санкт-Петербург, СПбНЦ РАН, 2022 г.); на всероссийских конференциях с международным участием «Экобиотех» (Уфа, УИБ УФИЦ РАН, 2019 г.); «Актуальные проблемы устойчивого развития агроэкосистем (почвенные, экологические, биоценотические аспекты)» (Ялта, ФГБУН «НБС-ННЦ», 2019 г.); Всероссийская школа-конференция с международным участием для молодых ученых «Молекулярно-генетические и клеточные аспекты растительно-микробных взаимодействий» (Санкт-Петербург, СПбНЦ РАН, 2021 г.).

Личный вклад автора. В диссертационной работе представлены результаты исследований, выполненные самим автором. Личный вклад Еговцевой А.Ю. состоит в анализе литературных источников, проведении экспериментальной части исследования, обработке, анализе, обобщении полученных результатов и формулировке выводов.

Публикации. Результаты диссертационного исследования отражены в 21 публикации в отечественных и зарубежных научных изданиях, из которых 5 – в

рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, 2 из которых по защищаемой научной специальности, 1 – глава в монографии, также опубликованы 3 работы, входящие в базы данных международных индексов научного цитирования и 12 тезисов докладов на международных и всероссийских конференциях.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа изложена на 161 странице машинописного текста, содержит 17 таблиц, 43 рисунка, состоит из введения, 3 глав, заключения, приложений. Библиографический список включает 248 источников, в том числе 114 отечественных и 134 – зарубежных авторов.

Финансовая поддержка работы. Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ А18-016-00197 «Поиск микроорганизмов с высоким ассоциативным потенциалом к *Triticum aestivum* L., их генетическая характеристика и перспективы использования в биотехнологиях» и в рамках Государственных заданий фундаментальных исследований № 0834-2019-0005 «Научно-методические основы технологии культивирования микроорганизмов, получения полифункциональных микробных препаратов для использования в системе агротехнических мероприятий возделывания сельскохозяйственных культур», № FNZW-2022-0005 «Функциональные особенности растительно-микробного взаимодействия в управлении стрессоустойчивостью, продуктивностью агрофитоценозов и реализации потенциала микробных препаратов нового поколения».

Благодарности. Автор выражает глубокую признательность и искреннюю благодарность своему научному руководителю чл.-корр. РАН, д.с.-х.н. В. С. Паштецкому за оказанную помощь на всех этапах выполнения диссертации; сотрудникам отдела сельскохозяйственной микробиологии и отделения полевых культур ФГБУН «НИИСХ Крыма» за советы, ценные замечания и содействие в проведении полевых исследований. Выражает благодарность сотрудникам ЦКП «Геномные технологии, протеомика и

клеточная биология» ФГБНУ ВНИИСХМ за помощь в проведении молекулярно-генетического анализа почвенного микробиома.

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Агроэкологическое состояние черноземов как среда формирования их биологической активности

Почва является сложнейшей биокосной системой и важнейшей субстанцией для биосферных процессов, образовавшейся в результате тесного взаимодействия природных факторов во времени. В ряду почвенных типов чернозем является классическим примером данного единства, демонстрируя максимальную продуктивность, аккумулируя в себе наибольшее количество органического вещества среди всех зональных почв. Экологические функции черноземов обладают высокой степенью изменчивости. Многолетние исследования динамических процессов, протекающих в агробиогеноценозах, свидетельствуют о значительной трансформации их структурно-функциональной организации, происходящей под влиянием усиливающегося антропогенного воздействия, следствием которого является ухудшение экологического состояния окружающей среды [44; 55]. Экологическое состояние почвы воздействует на здоровье человека через продукты питания или ее влияние на степень загрязнения окружающей среды [22]. Стремление к здоровому образу жизни с акцентом на здоровое питание способствует росту интереса населения многих стран к потреблению экологических продуктов. На мировом рынке органической продукции наблюдается устойчивая тенденция к увеличению объемов ее производства и потребления [218]. По оценке Союза органического земледелия количество органической продукции в Российской Федерации растет примерно на 10% ежегодно, сам сегмент активно развивается, но от огромного общего объема российского АПК его доля пока остается небольшой.

Современное агроэкологическое состояние черноземов, характеризующееся прогрессирующим дефицитом продуктивной влаги, уплотнением пахотного горизонта и снижением содержания органического вещества, представляет собой лимитирующий фактор, обуславливающий биоразнообразие почвенного микробоценоза. Внесение химических удобрений и средств защиты посевов от сорной растительности, фитопатогенов и насекомых-вредителей повышает их производительность, однако усиливается антропогенная нагрузка на агроценозы [58; 87], что ведет к упрощению структуры микробного сообщества почвы, в результате чего меняется направленность микробиологических процессов, что приводит к необратимому нарушению гомеостаза и деградации почвы [1]. Исследования в условиях Крыма показали, что систематическое использование химических защитных средств нарушает баланс и снижает общее видовое биоразнообразие в агроэкосистемах [86]. Нарушение баланса питательных веществ в земледелии ведет не только к уменьшению производства продукции и ухудшению ее качества, но и к снижению почвенного плодородия и экологической устойчивости агроландшафтов. Многолетние исследования черноземов Западного Предкавказья показывают закономерности изменения органического вещества почв – снижение содержания гумуса в черноземах агроценозов с 4–6% до 3–4%. Также 24-летнее исследование в Краснодарском крае о влиянии повышенных доз минеральных удобрений на интенсивность и динамику микробиологических процессов в условиях чернозема выщелоченного, показало чрезмерную интенсификацию минерализационных процессов, что привело к негативным изменениям в структуре микробного сообщества – снижение количества бактерий, актиномицетов, увеличение численности микромицетов, среди которых значительную нишу занимают фитопатогенные виды микроскопических грибов [37; 55]. Исследования, направленные на определение фитотоксичности почв различных ценозов методом биотестирования, на примере пшеницы озимой мягкой, показали, что самый высокий процент подавления роста зародышевых корешков семян пшеницы

проявился в варианте с интенсивной антропогенной нагрузкой, затем на почве с постоянным применением химических средств. Фитотоксичности на почве естественного биоценоза не наблюдалось. Также благодаря анализу биометрических параметров была показана зависимость токсической нагрузки и снижения развития корневой системы [68; 98]. В тоже время мероприятия по мелиорации повышают адаптивный потенциал почвенной микробиоты к постоянно меняющимся условиям внешней среды [196].

Применение химических удобрений оказывает серьезное воздействие на окружающую среду, обусловленное стоком избыточных не ассимилированных нитратов и сопутствующей эвтрофикацией рек, озер и океанов, а также загрязнением питьевой воды. Следствием применения средств химизации сельского хозяйства является загрязнение тяжелыми металлами, которые занимают особое место среди регуляторов биологических процессов [59]. Накопление избыточного их количества отрицательно влияет на многие процессы в почве: изменение физико-химических свойств, снижение биологической активности почвы и, как следствие, уменьшение продуктивности [9; 73]. Например: избыток цинка подавляет жизнедеятельность микроорганизмов, вследствие чего нарушаются процессы преобразования органического вещества в почвах, ферментативная активность, дыхание и другие процессы. Были проведены модельные эксперименты на дерново-карбонатных почвах Крымского полуострова, в результате которых было установлено, что загрязнение почв степного Крыма нефтью и оксидами хрома, свинца, никеля и меди негативно сказывается на ее биологическом состоянии, приводя к снижению общей численности бактерий и количества бактерий рода *Azotobacter*, каталазной и дегидрогеназной активности, способности разлагать целлюлозу. [45]. Кроме того, углекислый газ выделяется при сжигании ископаемого топлива, в том числе в процессе производства химических удобрений и способствует парниковому эффекту, как и разложение азотных удобрений, в результате чего выделяется закись азота. Этот газ

примерно в 292 раза более активен в качестве парникового газа, чем углекислый [151].

В связи с этим исследователи в области растениеводства активно изучают альтернативные стратегии повышения устойчивости сельского хозяйства. В своих исследованиях Коробской Н.Ф. всесторонне обосновал возможность существенного повышения плодородия за счет комплексного использования агротехники, минерального питания и управления микробиологическими процессами. При этом под агротехникой ученый понимал не только системы обработки почвы, но и оптимизацию севооборотов, сроков посева и приемов ухода за посевами, сбалансированное внесение макро- и микроэлементов, особенно в критические фазы развития, позволяющие не только наращивать урожайность, но и регулировать направленность почвенных процессов, управление микробиологической составляющей путем стимуляции аборигенной микробиоты [55].

Вопрос поддержания плодородия почв несомненно актуален для культуры пшеница, являющаяся одной из основных сельскохозяйственных зерновых культур, которая обеспечивает миллиарды людей продуктами питания. В настоящее время мировое производство зерна пшеницы составляет около 840 млн тонн зерна. Российская Федерация стабильно входит в тройку ведущих мировых производителей по возделыванию зерна пшеницы, средняя мировая урожайность которой составляет 3,8 т/га. Озимая пшеница является самой распространенной зерновой культурой в России, на нее приходится около 38 % (21,2–26,1 млн. га) всех посевов, выделенных под зерновые. Лидирующие позиции в производстве зерновых культур занимают южные регионы страны, в Крыму под этой культурой занято более 60 % посевных площадей зерновых. Озимая пшеница ценится за свои питательные качества, отвечающие всем необходимым требованиям для удовлетворения потребностей человека. Существует около 250 ее разновидностей и насчитывается несколько тысяч сортов, получивших широкое распространение в разных климатических поясах, что объясняется также хорошей адаптационной способностью этой

культуры. Однако реализация генетического потенциала этих сортов напрямую зависит от условий выращивания.

Таким образом, агроэкологическое состояние черноземов, определяемое сочетанием гидротермических условий, характера землепользования, агрохимических параметров, создает специфическую среду для проявления биологической активности, которая, в свою очередь, является ключевым фактором поддержания почвенного плодородия и устойчивости агроэкосистем.

1.2 Биологическая активность черноземов как агрохимический показатель, определяемый по численности и структуре микробоценоза

Главным компонентом почв является органическая часть, поскольку она обеспечивает растения элементами роста и развития. Биологическая активность почв различного типа, в том числе черноземов, как ключевой агрохимический параметр, отражает интенсивность процессов трансформации органического вещества и элементов питания [55; 197], напрямую завися от численности и структуры микробоценоза и служит оперативным индикатором состояния плодородия, в отличие от валовых запасов элементов, характеризует именно ту часть пула питательных веществ, которая может быть мобилизована в короткие сроки. Формирование органики в почве происходит при непосредственном участии микроорганизмов путем многочисленных биохимических превращений (круговорот азота, фосфора, калия и других макро- и микроэлементов) и, как следствие, участвуют в осуществлении почвообразовательных процессов и экологических функций почвы [36; 165]. Микробное почвенное сообщество является сложно организованной системой взаимодействующих организмов, характеризующейся высоким видовым разнообразием и широким спектром выполняемых функций, а также составной частью наземных экосистем, в связи

с чем к нему применимы экологические подходы оценки состояния биологической составляющей [50; 52]. Изменение количественных характеристик и соотношения между различными эколого-трофическими группами в микробоценозе служит основанием для понимания происходящих в почве биологических и химических процессов. Использование микробиологических анализов определения биологической активности по численности различных групп микроорганизмов, значений эколого-физиологических коэффициентов минерализации позволяет понять особенности взаимодействий отдельных групп микроорганизмов и составляет основу для мониторинга состояния антропогенно-преобразованных почв [60; 113]. В результате многолетних исследований было замечено, что состав зимогенной микрофлоры в большей степени регулируется корневыми выделениями растений, а представители автохтонных микроорганизмов сильнее реагируют на применение минеральных удобрений, что приводит к интенсификации минерализации гумуса [55]. Вместе с этим биологические показатели крайне вариабельны и значительно меняются с изменением условий окружающей среды и влиянием различных загрязняющих веществ [14].

Биоразнообразие микроорганизмов ассоциативных к растениям велико, тем не менее лишь недавно была признана значительная роль микробиома в жизни растения и предложена идея о рассмотрении его в качестве второго генома растения [234]. Для наиболее полного раскрытия агроэкологических функций почвенного микробиома существуют современные методы молекулярно-генетического анализа, позволяющие в полной мере оценить структурно-функциональные особенности почвенного микробиома [31; 65; 71] и служат для обеспечения контроля за чистотой и аутентичностью производственных штаммов, их молекулярно-генетической паспортизации [77; 144; 191]. Почвенный метагеном сложен по своему составу, в него включен как ДНК физиологически активных, так и покоящихся стадий микроорганизмов. Метагеномный подход в исследовании микробиома ризосферы растений помогает раскрыть роль некультивируемых микроорганизмов, так как

большинство, обитающих в естественных условиях организмов не способны расти в лабораторных условиях, и многие исследователи столкнулись с невозможностью учета большей части биоразнообразия [3; 76; 186]. Показано, что с применением современных метагеномных технологий получены данные о количестве генетической информации до 1Тб, содержащейся в грамме почвы [185] и высоком биоразнообразии прокариот, которое насчитывает тысячи видов [23]. Таким образом использование молекулярно-генетических методов в количественной оценке почвенных микроорганизмов показало увеличение на порядки значений численности микробного сообщества. Так же основным преимуществом исследований в области метагенома является его всеобъемлющий характер, так как позволяет изучать не только конкретные функции отдельных его компонентов, но и функции микробного сообщества как единого целого, рассматривая микробиом как совокупность взаимодействующих микроорганизмов.

Метагеномный подход существенно расширяет возможности агрохимических исследований, превращая их из преимущественно химических в комплексные. Позволяет анализировать состав и функциональный потенциал микробных сообществ. Кроме того, полногеномное секвенирование штаммов аборигенных ассоциативных микроорганизмов позволяет выявить функциональные особенности генома, ответственные за данный фенотип; объяснить с чем могут быть связаны возникающие адаптации. Также с помощью современных методов появилась возможность выявлять гены или группы генов, ответственные за трансформацию элементов питания. Некоторым ученым удалось продемонстрировать различия в структуре ризосферных микробиомов у разных видов [177] и сортов растений [143; 203]. Применение современного метода высокопроизводительного секвенирования в этих исследованиях позволило наглядно продемонстрировать роль сорта, продолжительности вегетации растения и типа почвы на таксономическую структуру микробиомов ризосферы. В подавляющем большинстве

исследований отмечалось, что наибольшее влияние на микробоценоз ризосферы оказывает тип почвы [155; 157; 211].

Таким образом, метагеномный анализ почв представляет собой эколого-функциональное направление современных почвенно-микробиологических исследований. Комбинирование современных методов высокопроизводительного секвенирования с классическим подходом позволяет решать важные задачи агрономической оценки микробоценоза почвы – в частности, изучать связи между таксономической структурой прокариот и свойствами почвы. Изучению ризомикробиома в последние годы уделяется значительное внимание в связи с реальной возможностью влияния на почвенную микробиоту и открывает возможность экологически безопасного управления продуктивностью сельскохозяйственных культур [137]. Исследования в этой области позволяют сократить использование синтетических удобрений и пестицидов и потенциально повысить устойчивость агроэкосистем.

1.3 Инокуляция ассоциативными ризобактериями как агрохимический прием повышения продуктивности

Для сохранения зерновой продуктивности сортов пшеницы необходимо усовершенствование технологии ее возделывания с адаптацией к почвенно-климатическим условиям [74], учитывая, что почвы юга России разнообразны по структуре, биохимическому составу, колебаниям температур, обеспечению влаги. Управление биологическими процессами в агроценозах возможно через интродукцию агрономически ценных штаммов микроорганизмов с высоким ассоциативным потенциалом в ризосферу растений. Применение биологических агентов усиливает полезное и ослабляет негативное

воздействие, что является переходом к адаптивному земледелию [82; 102; 180; 229]. Под понятием ассоциативный потенциал понимается способность микроорганизма колонизировать поверхность корней растений, используя корневые экссудаты в качестве источника питательных веществ, необходимых для роста и реализации функциональной активности, оказывающей положительное влияние на растительный макроорганизм [8]. Влияние интродуцированных микроорганизмов является положительным и важным на всех этапах онтогенеза растений и зависит от их способности приживаться на поверхности семян, корней и вегетирующих растений, продуцировать ферменты, физиологически активные вещества и антифунгальные продукты метаболизма, влиять на агрохимические свойства почвы. Микробные технологии формирования ризосферы растений с использованием микроорганизмов с высоким ассоциативным потенциалом в отношении определенных видов растений, с целью повышения их продуктивности и качества продукции, обеспечения устойчивости агроэкосистем к различным стрессовым воздействиям и сохранению окружающей среды [7], являются экологически безопасными, актуальными и перспективными для мирового сельского хозяйства.

Интродуцируемые микроорганизмы, попадая в результате инокуляции в почву, вступают в конкурентное взаимодействие с коренной микробиотой и претендуют на экологическую нишу в прикорневой зоне проростков, которая привлекает множество микроорганизмов с различными функциями. Фактор выживания и активности бактерий–интродуцентов в ризосфере на основе конкурентоспособности, взаимодействия с аборигенными микроорганизмами и устойчивости к влиянию корневых экссудатов растений является наиболее важным. Количество корневых выделений растениями пшеницы за сезон может находиться в пределах от 6 до 10 т/га органического вещества [67]. Разнообразие микробных сообществ ризосферы в основном определяется количественным и качественным составом экссудатов, зависящим от сорта и условий выращивания, вида, фазы развития растения, а также от влияния

комплекса почвенно-климатических факторов [62; 79; 90; 159; 210;], так, например, симптомы фузариоза у сорта пшеницы, выделяющего большие количества сахаров проявлялись в 2–3 раза сильнее, чем у сортов пшеницы с невысокой корневой экссудацией, таким образом влияние фитопатогенного гриба зависело от генотипа (сорта) растения [15]. Так же в недавних исследованиях [215] стало известно, что растения способны выделять специфические корневые экссудаты для рекрутирования полезных ризосферных микробов при внекорневой инвазии патогенов, включая длинноцепочечные жирные кислоты, аминокислоты, короткоцепочечные органические кислоты и сахара. Канадские ученые изучали разнообразие бактериальных сообществ, обитающих в ризосфере, корнях и надземных органах пшеницы и рапса и выявили, что на бактериальные сообщества в ризосфере культур в основном влияли характеристики почвы, в то же время как с каждым видом сельскохозяйственных культур было связано определенное сообщество корневых эндофитов. Эти результаты позволяют предположить, что растение может выбирать из ризосферы определенные корневые бактериальные эндофиты необходимые ей для роста и развития [147].

Таким образом, основным требованием современного экологически ориентированного растениеводства является использование биопрепаратов, основу которых могут составить стимулирующие рост растений бактерии (или PGPB от Plant Growth Promoting Bacteria), населяющие ризосферу [114; 198; 214]. Поиск высокоэффективных штаммов из состава аборигенной почвенной микробиоты и разработка растительно-микробных систем на их основе имеют важное значение для адаптации к конкретным почвенно-климатическим условиям и решения проблемы биологизации агротехнологий [48; 101].

Систематическое изучение ассоциативных штаммов началось примерно в 1970-х годах и связано с работами бразильских ученых. Дж. Деберейнер и ее коллеги впервые обнаружили бактерии рода *Azospirillum*, фиксирующие азот в ассоциации с зерновыми [129]. Изучение ассоциативных микроорганизмов в нашей стране началось в конце 1970-х – начале 1980-х годов и было связано с

такими учеными как М.М. Умаров, О.А. Берестецкий, В.В. Игнатов и другие. На сегодняшний день таксономический спектр бактерий, положительно влияющих на растения, в том числе и пшеницу, расширяется благодаря исследованиям в этой области. Так в ходе испытаний на пшенице инокуляция *Burkholderia gladioli* ST3M-39a значительно улучшила показатели биомассы растений по сравнению с контрольными образцами без инокуляции. Штамм обеспечивал быструю растворимость фосфатов, цинка, выработку аммиака, образование внеклеточного полимера и синтез ферментов, снижающих стресс [152]. Применение штамма *Bacillus cereus* способствовало улучшению всхожести семян, физиологическому состоянию и значительно ускоряло рост растений, повышало уровень антиоксидантов и урожайность пшеницы [241]. Ученые Кубанского государственного аграрного университета разработали биопрепарат, на основе штамма-антагониста и стимулятора роста *Bacillus subtilis*, способный увеличить урожайность пшеницы на 10 % и снизить риск грибковых заболеваний на 80 %. Не смотря на наличие исследований в данной области, вопрос о взаимоотношениях почвенных микроорганизмов и растений при изменяющихся условиях окружающей среды, требует дальнейшего фундаментального изучения.

1.4 Механизмы растительно-микробного взаимодействия как основа агрохимической эффективности ассоциативных ризобактерий

Разнообразие биотических связей, которые формируются в почве ризосферы, определяет спектр микробного сообщества и уровень его взаимодействия с растительным организмом. Микроорганизмы, составляющие большую часть филогенетического разнообразия, являются неотъемлемыми

участниками биогеохимических процессов, и влияют на биодоступность важнейших питательных веществ, необходимых для роста растений [119]. Существуют разного рода механизмы положительного влияния ассоциативных бактерий на жизнедеятельность растений, одним из которых является давно известный эффект, связанный с минеральным питанием растений, заключающийся в снижении субацидности и трансформации неорганических веществ в доступную для растений ионную форму. Азотфиксация прокариот как способ обеспечения растения доступными формами азота является наиболее изученным вопросом в области взаимодействия растений и микроорганизмов [82]. Наличие усвояемой формы азота в почве во многом зависит от активности микроорганизмов, при этом бактерии и грибы играют ключевую роль в его преобразовании, иммобилизации и высвобождении. Многие работы ученых направлены на исследования взаимодействия растений с азотфиксирующими ризосферными бактериями (дiazотрофами), благодаря жизнедеятельности которых происходит усиление ассоциативной азотфиксации, достигающее 30–50 азота на гектар за вегетацию, способствующее при определенных условиях внесению существенного вклада в обеспечение растений азотом [41; 57; 100; 145; 240]. Известно, что микробные препараты на основе азотфиксирующих бактерий обладают широким спектром действия, их применение позволяет снизить дозу минеральных азотных удобрений [43] без уменьшения урожайности, что, кроме этого, положительно сказывается на уровне содержания нитратов и нитритов в продукции [89].

Способность ризобактерий переводить труднодоступные фосфаты в растворимые формы, так же рассматривается как важный механизм положительного влияния на фосфорное питание растения [20; 38; 108], так как фосфор влияет на многие биохимические процессы в растении [225]. Так было показано, что штамм *Agrobacterium radiobacter* 10 может использовать фитат натрия в качестве источника углерода и фосфора, ферментативно его гидролизует, в результате чего в среду выделяется свободный ортофосфат, а в осадке бактериальных клеток накапливается иммобилизованный фосфор.

Также было выявлено, что штамм *Pseudomonas chlororaphis* ПГ7 способен растворять неорганические (трикальцийфосфат, гидроксиапатит) и органические фосфаты (фитат кальция) [49]. Основной механизм данного процесса – выделение микроорганизмами органических кислот, прежде всего глюконовой кислоты.

Помимо хорошо известных макроэлементов, в питании растений важную роль играют микроэлементы, такие как цинк, медь, железо и марганец, которые в небольших количествах необходимы для различных метаболических процессов [173]. Однако в большинстве почв эти питательные элементы часто связаны в нерастворимые минеральные комплексы, что делает их практически недоступными для прямого поглощения растениями [223]. Существенную роль в повышении доступности питательных элементов выполняют сидерофоры – высокоафинные низкомолекулярные соединения, секретируемые бактериями, хелатирующие и связывающие катионы железа и другие металлы, с образованием малотоксичных метаболитов и их включение в метаболические процессы клетки, что объясняет возможность влияния, в том числе и на фиторемедиацию [140; 182; 204]. Бактерии, археи и грибы являются типичными первичными биоремедиаторами. Так обработка семян пшеницы штаммами *Bacillus cereus* и *Pseudomonas frederiksbergensis* способствовала повышению активности осмопротекторов и антиоксидантов в растениях, при этом поглощение кадмия корнями и побегами снизилось до 55,3 % [141]. Эффективность биоремедиации зависит от многих факторов: химической природы поллютантов, концентрации загрязняющих веществ, их доступности для микроорганизмов и физико-химических характеристик окружающей среды [124].

Также одним из самых значимых механизмов растительно-микробного взаимодействия является продуцирование бактериями биологически активных веществ, в том числе, фитогормонов (ауксинов, цитокининов и гиббереллинов) [75; 53; 66; 109]. Большое количество исследований посвящено роли ауксинов в стимуляции роста, развития и питания растений [13]. В исследованиях влияния

ауксин продуцирующих штаммов бактерий на растения пшеницы при обработке гербицидом, показано положительное влияние бактериальных обработок на суммарное содержание хлорофилла, относительное содержание воды в листьях и роль бактерий в перераспределении АБК (абсцизовая кислота) и ИУК (индолилуксусная кислота) в побегах и корнях растений пшеницы в условиях гербицидного стресса [84]. Многие ризобактерии способны синтезировать также цитокинины и гиббереллины, действие которых приводит к усилению клеточного деления и стимуляции роста побегов растений, передачи сигналов, связанных с поступлением питательных веществ, увеличение площади листьев, стимулирование прорастания семян, цветения [25; 212; 213].

Многие бактерии благодаря своим свойствам могут выполнять важную роль в защите растений от неблагоприятных условий среды и абиотических стрессов [192; 226]. Таким многофункциональным антистрессовым эффектом обладают микроорганизмы, имеющие фермент 1-аминоциклопропан-1-карбоксилат (АЦК) деаминазу, обуславливающий в растениях снижение содержания сигнальной молекулы этилена в стрессовых условиях [81; 118; 136; 161; 248]. Так АЦК-утилизирующие ризобактерии способны выполнять важную эколого-стабилизирующую роль в агроценозах. Также результаты недавних исследований [2] показали участие лектинов азоспирилл ризосферы в повышении способности растений переносить воздействие абиотических факторов, развивая реакции, направленные на усиление жизнестойкости растения, что является одной из причин считать эти белки способными повышать выживаемость растений в условиях действия стрессоров различной природы и, тем самым выполнять роль одного из составляющих общих клеточных протекторных систем. Спорообразующие бактерии выживают в различных стрессовых условиях окружающей среды, превращаясь в покоящиеся эндоспоры. Исследования показали, что инокуляция спорами, выделенных из корней и ризосферных почв сельскохозяйственных культур штаммов родов *Bacillus*, *Priestia* и *Paenibacillus* привела к увеличению

биомассы побегов и корней в стрессовых засушливых условиях по сравнению с контрольными образцами без инокуляции. Кроме того, инокуляция спорами модулировала экспрессию генов, связанных со стрессом [178].

Одним из основных экологических свойств почвенных микроорганизмов является его крайне высокое биоразнообразие, которое непосредственным образом связано с решением проблем фитосанитарии. Супрессирующая активность микроорганизмов ризосферы, в отношении фитопатогенных микроорганизмов и животных-фитофагов, является одной из главных. Этот процесс обеспечивается путем повышения устойчивости растений к патогенам и абиотическим стрессам, благодаря повышению жизнеспособности [75]. Некоторые микроорганизмы также способны продуцировать фунгициды, антибиотики, токсические вещества и литические энзимы [103; 112; 158; 194; 212], оказывающие угнетающее и уничтожающее действие на патогены. В одной из недавних работ [114] выявлены различия в активации транскрипционной активности гена ингибитора протеиназы в проростках пшеницы под воздействием штаммов *Bacillus subtilis*, *B. thuringiensis* и их смеси, что свидетельствует о различных путях формирования устойчивости пшеницы к *Til. Caries* (твердая головня), которые могут быть связаны с природой микроорганизма–продуцента. Исследования ученых Краснодарского края показывают, что использование биопрепаратов на основе бактерии *B. subtilis*, выделенной из ризосферной почвы пшеницы, эффективна против фузариоза и других болезней пшеницы. Микологический анализ почвы показал, что применение биофунгицида повысило способность почвы подавлять развитие болезней на 21,1% и привело к увеличению урожайности на 2,5 %. [164]. Также в регионе изучают применение триходермы и энтомопатогенных грибов, которые не уступают химическим средствам по эффективности. Изучались следующие культуры микроорганизмов из коллекции: *Trichoderma viride* и *T. lignorum*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus megatherium*, *B. thuringiensis*, *Pseudomonas fluorescens*. Результаты исследований показали, что применение микроорганизмов не

уступает по эффективности химической защите и имеет свои преимущества. Систематическое применение биопрепаратов на зерновых культурах оказалось целесообразным, так как позволило повысить устойчивость и плодородие почвы, подавить развитие различных патогенов и вредителей на посевах озимой пшеницы, сократить количество вносимых пестицидов, а также добиться высокой экономической эффективности. [181].

Таким образом, в развивающемся устойчивом экологически направленном земледелии применение штаммов микроорганизмов с высоким ассоциативным потенциалом, в качестве инокулянтов, для защиты, улучшения роста, питания сельскохозяйственных культур, и как следствие, увеличение продуктивности, в том числе и пшеницы, служит одним из перспективных подходов биологизации [100; 212].

Изучение взаимосвязей в продуктивной системе «микроорганизмы – растение – почва» способствует выявлению новых эмерджентных свойств, формирующихся в результате взаимодействия ее компонентов. Изучение механизмов формирования эффективных ассоциативных связей позволяет расширить научные представления о функционировании растительно-микробных систем и служит основой для совершенствования технологий применения биопрепаратов, повышения стабильности их действия при получении качественной и экологически безопасной сельскохозяйственной продукции.

ГЛАВА 2 ОБЪЕКТЫ, УСЛОВИЯ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ПРОВЕДЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 Объекты исследования

Во время экспедиций 2018 года произведены отборы растительно-почвенных монолитов пшеницы озимой, выращенной после черного пара. Исследования на данном этапе проводились в фазу трубкования пшеницы озимой. Растительно-почвенные монолиты были отобраны на черноземе (Chernozems) южном предгорной (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)), на черноземе обыкновенном в 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)) [7]. Схема размещения пунктов отбора приведена в приложении А.

В качестве растительных объектов использовали сорта озимой пшеницы мягкой, внесенные в Государственный реестр по Северо-Кавказскому (6) региону и перспективные для выращивания в почвенно-климатических условиях Крыма. В эксперимент были включены сорта Багира, Ермак и Лидия. Сорт Багира создан в Ставропольском НИИСХ, сорта Ермак и Лидия – в «АНЦ «Донской». Все изучаемые сорта относятся к степному экотипу, разновидности *erytrospermum* и характеризуются среднеранними сроками созревания. Для них отмечена устойчивость к полеганию и способность переносить засушливые условия. Сорт Багира сорт с хорошей зимостойкостью и потенциальной урожайностью. Для него отмечается устойчивость к бурой ржавчине и мучнистой росой, умеренная устойчивость к септориозу и такого же уровня восприимчивость к фузариозу колоса пшеницы. Сорт Ермак относится к короткостебельной группе, отличается высокой зимостойкостью. Устойчив к поражению бурой ржавчиной, средневосприимчив к мучнистой росе, слабо – к

пыльной головне. Сорт Лидия обладает высокой продуктивностью, повышенной засухоустойчивостью и высокой зимостойкостью. Устойчив к бурой ржавчине и пыльной головне. В целом исследуемые сорта обладают средней устойчивостью к основным заболеваниям. По направлению использования Ермак относится к интенсивному типу, а Багира и Лидия – к сортам универсального назначения.

Чернозем южный степной зоны Крыма (Haplic Chernozems Pachic) относится к слабогумусированным среднемощным почвам тяжелосуглинистого гранулометрического состава. Почвообразующими породами служат верхнеплейстоценовые элювиально-делювиальные и эолово-делювиальные лессовидные суглинки; гранулометрический состав лессовидных глин варьирует от легкоглинистого до среднеглинистого [47]. Грунтовые воды залегают на глубине 20–30 м [88]. Содержание гумуса в пахотном горизонте составляет 2,4–2,7 %. Обеспеченность подвижными формами элементов питания (на 100 г абсолютно сухой почвы): легкогидролизуемый азот – 5,2 мг, фосфор – 1,0–2,5 мг, калий – 42 мг. Реакция почвенного раствора в верхнем горизонте слабощелочная – pH 7,7–7,9. Сумма поглощенных оснований составляет 33,5 мг-экв/100 г почвы [47]. Агрофизические характеристики почвы: доля агрономически ценных агрегатов размером более 1 мм – 33–42 %. Плотность сложения в пахотном слое – 1,14–1,28 г/см³, в подпахотном 1,33–1,48 г/см³. Общая пористость верхних горизонтов до 50,2 %. Водоудерживающая способность чернозема южного степной зоны Крыма обеспечивает аккумуляцию 300–350 мм влаги, из которых доступной растениям – продуктивной – 160–180 мм [78].

Климат степной зоны характеризуется как засушливый, умеренно жаркий, с умеренно мягкой зимой. Среднегодовая температура воздуха составляет около 10,0 °С. Сумма активных температур (выше +10 °С) достигает 3280 °С. Продолжительность безморозного периода – 171 день. Вегетационные оттепели отмечаются в 35 % зим. Сумма осадков за год – 435 мм, в период активной вегетации выпадает 285 мм. На летний период приходится 30–33 %

годовой суммы осадков. Годовая испаряемость – 843 мм, гидротермический коэффициент (ГТК) – 0,7. Суховеи наблюдаются в среднем 10–19 дней в год, вероятность засухи для подавляющей части территории составляет 40–50% лет [74].

Почва предгорной зоны Крыма представлена черноземом южным карбонатным тяжелосуглинистого гранулометрического состава (*Naiplic Chernozems Calcaric*). Реакция почвенного раствора – pH 7,0–7,2. Мощность гумусового горизонта составляет 35–60 см, содержание гумуса в пахотном слое – 2,7–3,0 %, общего азота – 0,12 %, общего фосфора – 0,10 %, калия – 1,0 %. Сумма поглощенных оснований – 27–32 мг-экв/100 г абсолютно сухой почвы, в составе поглощенных катионов преобладает кальций. Содержание карбонатов в пахотном слое – 2,5–4,0 %. В составе гумуса доминируют фракции гуминовых кислот, связанных с кальцием. Окраска гумусового горизонта варьирует от темно-серой до буровато-серой, структура в пахотном слое распыленная. Почвообразующие породы представлены элювием, делювием, известняковыми конгломератами, карбонатными песчаниками и глинисто-галечниковыми отложениями. Для черноземов на плотных карбонатных породах характерно отсутствие в большинстве случаев скоплений «белоглазки» и гипса [69; 78; 104].

Для предгорной зоны Крыма характерен полузасушливый теплый климат с умеренно мягкой зимой. ГТК составляет 0,89. Среднегодовая температура воздуха составляет +8,5...+9,8 °С, годовое количество осадков – 505 мм при уровне испаряемости 830 мм. Засухи на данной территории возникают редко. Холодный период длится примерно 66 дней – с 25 декабря по 1 марта. В 35–45 % зим отмечаются вегетационные оттепели [74].

Опытные участки в г. Зерноград (Ростовская область) расположены на черноземе обыкновенном карбонатном (*Voroni Calcic Chernozem*) тяжелосуглинистого гранулометрического состава, мощном, малогумусном. Почва характеризуется высокой порозностью, хорошей аэрацией и газообменом, значительной водопроницаемостью и влагоемкостью.

Содержание карбонатов в пахотном слое составляет 2,5–4,0 %. Содержание гумуса – 3,6–4,0 %, подвижного фосфора – 20–23 мг/кг, обменного калия 300–380 мг/кг почвы, реакция рН почвы 7,1. Почвенные характеристики: сумма поглощенных оснований – 33–39 мг/экв на 100 г почвы, преобладает кальций. Содержание поглощенного натрия – 0,5–1,5 % от емкости поглощения. Механический состав почвы – глинистый и суглинистый, структура мелкозернистая, сложение рыхлое. Благодаря этим свойствам почва легко поддается обработке.

Климат территории Ростовской области умеренно континентальный, характеризуется полузасушливым жарким летом и умеренно мягкой зимой. Среднее многолетнее количество осадков составляет 544,6 мм с большими колебаниями по годам – от 362 мм в 2007 году до 786 мм в 1980 году. Две трети годовых ливневых осадков выпадает в период вегетации. Сумма активных температур за период вегетации превышает 28000 °С. Среднемноголетняя температура воздуха составляет 9,70С. Гидротермический коэффициент – 0,80–0,85. С апреля по октябрь отмечается 60–65 суховейных дней. Продолжительность периода без мороза составляет 180–200 дней. Зима умеренно холодная, с оттепелями (25–30 дней), малоснежная с нестабильным снежным покровом (высотой от 2 до 25 см). Средняя температура воздуха за сутки в самом холодном месяце январе – минус 50 °С. Наибольшее 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 +22...+24 °С [104]. Сумма поглощенных оснований – 33–39 мг/экв. на 100 г почвы с преобладанием кальция. Поглощенного натрия 0,5–1,5 % от емкости поглощения. Почва глинистая и суглинистая имеет мелкозернистую структуру, легко поддается обработке.

Почва опытного участка Ставропольского края (г. Михайловск) – чернозем обыкновенный (Voronii-Calciс Chernozem) среднеспелый малогумусный тяжелосуглинистый. Почвообразующей породой служат

карбонатные лессовидные суглинки Центрального Предкавказья. Агрохимические показатели почвы: содержание гумуса в пахотном слое – 4,45 %, общего азота – 0,25 %, валового фосфора – 0,12 %. Уровень подвижных форм питательных веществ: фосфора – 17 мг/кг, обменного калия – 210 мг/кг почвы. Реакция среды слабощелочная – 7,3–7,5. Почвообразование в черноземах обыкновенных ведется на лессах и лессовидных суглинках или элюво-делювии коренных пород, преимущественно глинисто-суглинистого состава. Гумусовый горизонт темно-серого или черного цвета отчетливой зернисто-комковатой структуры [60].

Климат территории опытного участка в Ставропольском крае умеренно жаркий, с умеренно мягкой зимой. Территория относится к зоне неустойчивого увлажнения. Годовая сумма осадков – 450–550 мм, из которых 300–350 мм выпадает в период активной вегетации растений. Сумма активных температур за вегетационный период – 3200–3400 °С. Гидротермический коэффициент – 0,9–1,1. Летний период начинается 10–16 мая, средняя месячная температура июля – +22...+24 °С, максимальные значения достигают +41...+42 °С. В течение вегетационного сезона отмечается 60–80 дней с суховеями. Безморозный период длится 180–195 дней, осенние заморозки наступают в среднем 15–20 октября, в отдельные годы – уже в середине сентября. Переход среднесуточной температуры через 0 °С приходится на 3–5 декабря. Среднемесячная температура января составляет –3...–5 °С, минимальная может опускаться до –32 °С. Снежный покров неустойчивый, средняя высота – около 10 см, в отдельные годы может достигать 80 см. Весна наступает 7–9 марта, весенние заморозки обычно прекращаются к середине апреля, однако в отдельные годы могут сохраняться до конца весны [6].

2.2 Метеорологические условия вегетационного периода озимой пшеницы 2018-2021 гг. в полевых исследованиях на черноземе южном степной зоны Крыма

Исследования влияния ассоциативных штаммов бактерий к *T. aestivum*, выделенных в 2018 году, на ее продуктивность проводили в условиях полевого опыта 2018-2021 годов в отделе интродукции и технологий в полеводстве и животноводстве ФГБУН «НИИСХ Крыма» на трех сортах пшеницы озимой мягкой: Ермак, Багира и Лидия. Отбор растительно-почвенных образцов для анализа выполняли в фазу цветения пшеницы – в период ее активного развития. Исследования проводили на черноземе южном степной зоны Крыма (с. Клепинино, Красногвардейский район). Погодные условия в ходе эксперимента отличались значительной контрастностью (приложение Б).

В вегетационный сезон 2018-2019 годов условия влагообеспеченности в осенний период сложились благоприятные – количество осадков достигло 160 мм, что на 70 мм превышает среднемноголетние показатели. Благодаря этому удалось получить своевременные всходы и обеспечить нормальное развитие озимых зерновых культур вплоть до завершения осенней вегетации, которое зафиксировали 13 ноября – на две недели раньше обычных многолетних сроков.

В зимний период наблюдался повышенный температурный режим – на 2–4 °С выше среднемноголетних значений (приложение Б, рисунок 1). Так, средняя температура воздуха составила в ноябре +5,0 °С, в декабре +4,3 °С, в январе +2,8 °С, а в первой половине февраля – +4,6 °С. Весенняя вегетация возобновилась 26 февраля – это на две декады раньше среднемноголетних сроков. За зиму количество выпавших атмосферных осадков обеспечило накопление продуктивной влаги в метровом слое почвы (приложение Б, рисунок 2). Суммарное количество осадков за весь вегетационный период озимых культур в условиях 2018-2019 гг. достигло 558,9 мм, что превышает

среднемноголетние значения на 130,9 мм. Дефицит влаги отмечался в весенние месяцы – в период активного развития озимой пшеницы.

Период вегетации озимых культур в сезоне 2019-2020 годов сложился в неблагоприятных метеорологических условиях. В период посева озимых и в целом в осенние месяцы наблюдалось продолжительное отсутствие осадков с повышенным температурным режимом. В сентябре температура превысила среднемноголетние значения на 1,6 °С, в октябре – на 2,8 °С, а в первой половине ноября отклонение составило 7–12 °С. В зимний период отмечался значительный недостаток осадков. Сильные ветры в марте и апреле в сочетании с относительной влажностью воздуха на уровне 30 % и ниже. Отрицательное влияние также оказали продолжительные заморозки с понижением температуры до –2 °С. В фазу колошения развились атмосферная и почвенная засухи, усугубившие стрессовое состояние посевов. В начале зимы температура воздуха превышала норму на 5–6 °С, январь и февраль также отличались повышенным температурным режимом. В связи с этим наблюдалась непрерывная вегетация пшеницы озимой. Запасы продуктивной влаги в почве пополнялись неудовлетворительно – основная причина длительное отсутствие эффективных осадков. Так, за период после уборки ранних культур (август–сентябрь) выпадение осадков составило лишь 29 мм при норме 65 мм, то есть менее половины от среднемноголетнего уровня. Одновременно с влагодефицитом осенний сезон отличался повышенным температурным режимом: в сентябре средняя температура достигла 18,2 °С (на 1,6 °С выше нормы), в октябре – 13,3 °С (на 2,8 °С выше нормы). Среднемесячная температура ноября превысила норму на 2,6 °С, причем в первой декаде отклонение от средних значений составляло 7–12 °С, а максимальная температура достигала 25 °С. Скорость ветра в первой и второй декадах ноября составляла 16–18 м/с, а в третьей декаде превышала 20 м/с.

К моменту проведения посева пахотный слой черного пара был практически лишен продуктивной влаги. Ситуация улучшилась лишь в декабре с выпадением 40 мм осадков, однако к этому моменту появление массовых

всходов задержалось до конца месяца. В течение зимы растения развивались слабо, а метеорологические условия холодного периода не обеспечили значимого накопления влаги в почве. Весна началась с резкого повышения температуры: в первой половине марта в отдельные дни столбик термометра достигал 25,4–27,1 °С, что стало толчком к интенсивному росту озимой пшеницы.

С середины марта до конца апреля отмечались систематические заморозки в ночное время: температура воздуха снижалась до –7,5...–8,3 °С, а на поверхности почвы до –11 °С. Длительность периода заморозков составила около 20 дней. На протяжении данного периода сохранялась засушливая погода. Значение гидротермического коэффициента за весенний сезон 2020 года составило 0,25, что подтверждает значительный недостаток осадков при повышенных температурах. В период с 1 марта по 30 мая зарегистрировано 45 дней с относительной влажностью воздуха ниже 30 %, что на 27 дней больше нормы.

Температурный режим первой декады июня характеризовался экстремальными значениями. Максимум достиг 37 °С на фоне полного отсутствия осадков. В то же время во второй декаде июня выпало 58 мм осадков, что соответствовало 243 % нормы. Аналогичное количество осадков зафиксировано в первую пятидневку второй декады июля. Избыточное увлажнение в этот период привело к задержке уборочных работ почти на две недели, возросла засоренность посевов, снизилась их продуктивность, а также ухудшилось качество зерна.

Вегетационный период 2020-2021 годов в целом характеризовался количеством осадков близким к среднегодовой норме, однако продуктивные осадки выпали лишь во второй половине мая, уже после того, как озимые зерновые культуры прошли ключевые фазы развития. После возобновления вегетации у озимых зерновых значимый период развития – выход в трубку, закладка и формирование генеративных органов и до колошения. Это время растения испытывают повышенную потребность в

продуктивной влаге. В период апрель–май при норме 70 мм только под урожай 2021 года выпало удовлетворительное количество осадков.

За годы проведения полевых исследований по определению влияния ассоциативных микроорганизмов на биологическую активность, агрохимические показатели и продуктивность, во время вегетации озимых зерновых наблюдалось несвоевременное выпадение осадков и в недостаточном количестве, что сказалось на урожайности пшеницы озимой.

2.3 Микробиологические, молекулярно-генетические и агрохимические методы

Для выделения микроорганизмов с высоким ассоциативным потенциалом применяли модифицированный метод получения изолированных от внешней среды корней в сосуде Леонарда [8; 110]. Данный метод дает возможность отобрать наиболее активные ассоциативные штаммы бактерий, обладающие значительным сродством к растению-макросимбионту (ассоциативным потенциалом). Элективная среда создает условия, обеспечивающие удовлетворение энергетических потребностей микроорганизмов благодаря корневым выделениям растения, а отрицательное влияние факторов, ограничивающих развитие растений, нивелируется благодаря активности ассоциативных микроорганизмов. В качестве основного источника экссудатов и субстрата для выделения целевых микроорганизмов выступали растения озимой пшеницы и отобранная в полевых условиях ризосферная почва, материал был получен в ходе экспедиционных исследований 2018 года. Отбор ризосферной почвы осуществляли в лабораторных условиях путем отделения почвенного слоя, прилегающего к корням пшеницы на расстоянии не более 5 мм от их поверхности. Полученный ризосферный субстрат помещали в

сосуды Леонарда, где впоследствии проводили выращивание различных сортов мягкой пшеницы до получения свободных от субстрата корней, с апикальной части которых выделяли микроорганизмы (приложение В). Используя общепринятые в микробиологии методы проводили очистку и первичный скрининг полученных изолятов микроорганизмов.

Вегетационные эксперименты проводили в стеклянной теплице для определения влияния нововыделенных штаммов бактерий, ассоциативных с *T. aestivum*, на развитие растений трех сортов пшеницы. Эксперимент осуществляли на двух типах почв – на черноземе южном и обыкновенном. Сосуды объемом 0,5 л размещали в деревянных поддонах, повторность пятикратная. По 2 растения на сосуд. Расчет показателей проводили на 1 растение.

Количественную оценку основных эколого-трофических групп в ризосфере озимой пшеницы (аммонификаторов и амилолитиков, азотфиксаторов, микромицетов, целлюлозолитиков, актиномицетов, олиготрофных и педотрофных микроорганизмов) проводили в колониеобразующих единицах (КОЕ) на 1 грамм абсолютно сухой почвы. Учет выполняли с использованием метода предельных разведений и последующим посевом на селективные питательные среды в соответствии со стандартными микробиологическими методами [97]. Мясопептонный агар (МПА) применяли для общего учета мезофильных гетеротрофных бактерий, крахмало-аммиачный агар (КАА) – для выявления амилолитических микроорганизмов. Педотрофные и олиготрофные микроорганизмы определяли соответственно на почвенном (ПА) и голодном агаре (ГА). Азотфиксирующие микроорганизмы выявляли на безазотистой среде Виноградского, целлюлозоразлагающие – на среде Гетчинсона, микромицеты учитывали на среде Чапека, а представителей рода *Azotobacter* – на среде Эшби. Дополнительно рассчитывали индексы олиготрофности и педотрофности, а также коэффициенты минерализации и олигонитрофильности, позволяющие охарактеризовать направленность и интенсивность микробиологических процессов в ризосферной почве [99; 107].

Вычисление данных эколого-физиологических индексов и коэффициентов производили путем расчета отношения численности микроорганизмов. Для оценки функциональной активности микробного сообщества рассчитывали следующие показатели: коэффициент минерализации определяли как отношение численности микроорганизмов, выявленных посевом на КАА, к количеству микроорганизмов, выросших на МПА, который отражает соотношение аминолитической и общей гетеротрофной микрофлоры, характеризует интенсивность процессов трансформации органического вещества. Индекс педотрофности рассчитывали как отношение числа микроорганизмов, учтенных на ПА к численности микроорганизмов на среде МПА, индекс позволяет оценить долю микроорганизмов, адаптированных к естественным почвенным условиям, данный индекс высокий на залежных почвах и целине. Путем деления численности микроорганизмов, выросших на ГА, на количество колоний на МПА определяли индекс олиготрофности. Показатель свидетельствует о доле микроорганизмов, способных развиваться при низком содержании питательных веществ и, поэтому, отражает уровень обеспеченности среды доступными ресурсами. Коэффициент олигонитрофильности выявляли по отношению численности микроорганизмов, учтенных на среде Виноградского, к числу микроорганизмов, растущих на МПА. Определение данного показателя помогает установить активность азотфиксирующей микрофлоры, обитающей в почве с низким содержанием доступных питательных веществ. Расчетные индексы и коэффициенты дают комплексную характеристику трофической структуры и функциональной направленности микробоценоза ризосферной почвы. Обработку полученных результатов исследований проводили статистическими методами [32] с использованием программ Excel 2016 и Statistica 10. Статистический анализ данных включал расчет описательных статистик, кластерный [19] и дисперсионный анализ, расчет коэффициентов корреляции Спирмена [64]. Результаты считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Отбор ризосферных образцов проводили в фазу трубкования пшеницы в условиях 2018 года. Микробиологический и таксономический анализы дали возможность оценить состояние микробного сообщества черноземов южного (степная и предгорная зоны) и обыкновенного при выделении ассоциативных с растениями микроорганизмов. Оценку действия выделенных штаммов на продукционный процесс пшеницы озимой продолжили в полевых условиях на черноземе южном степной зоны Крыма в 2018-2021 годах. Образцы для микробиологического, агрохимического и метагеномного анализа в этих опытах отбирали в активную фазу цветения растений в 2019 и 2020 году.

Для характеристики таксономического состава ризосферного микробиома применяли метод высокопроизводительного секвенирования библиотек гена 16S рРНК. Тотальную ДНК из почвенных образцов выделяли с использованием набора PowerSoil DNA Isolation Kit (Qiagen, Германия) на приборе Vortex Genee-2 (Mo-bio, США) в соответствии с рекомендациями производителя. Очистку ДНК осуществляли методом электрофореза с последующим извлечением необходимого фрагмента из агарозного геля [4]. Библиотеки маркерного гена 16S рРНК получали методом ПЦР. Для амплификации переменного участка V4 применяли универсальные праймеры F515 / R806 (GTGCCAGCMGCCGCGGTAA/ GGACTACVSGGGTATCTAAT) [163] и одновременно присоединяли адаптеры и уникальные баркоды Illumina. Дальнейшую подготовку библиотек и секвенирование проводили на платформе Illumina MiSeq (Illumina, США) согласно рекомендациям производителя, с использованием реагентов MiSeq® ReagentKit v3 (600 cycle) с режимом двустороннего чтения (2×300 н). Первичную обработку последовательностей, включая демультиплексирование образцов и удаление адаптерных последовательностей, выполняли с помощью программного обеспечения Illumina. Последующий анализ включал деноизинг, объединение последовательностей и исключение химерных прочтений, восстановление вариантов ампликонных последовательностей (ASV – Amplicon Sequence Variant) и их таксономическую классификацию. Для обработки применяли

пакеты dada2 [148], phyloseq [193] и DECIPHER [245] в среде R. Визуализацию результатов таксономического анализа выполняли с использованием инструментов QIIME [207]. Дополнительный таксономический и статистический анализ проводили в PAST3 [169] и с использованием интернет-ресурсов.

Для секвенирования геномов выделенных бактерий, ДНК получали из чистых суточных культур с использованием GeneJet Genomic DNA Purification Kit (Thermo Scientific). Предварительно очищенную геномную ДНК фрагментировали и лигировали с адаптерами с применением набора HyperPlus (Кара Biosystems, США), секвенировали на «Illumina MiSeq» (Illumina, США). Парные прочтения биоинформатически обрабатывали и обрезали с применением Trimmomatic v.0.38 (режим парного конца с размером окна 4, минимальное качество 15 и длина чтения 36) [132]. С помощью программы CLC Genomic Workbench с параметрами по умолчанию выполнена сборка бактериальных геномов. Контиги длиной менее 500 п.н. исключали. Аннотацию полученных полных геномов в результате данной работы проводили на платформе RAST (Rapid Annotation using Subsystems Technology) по схеме RASTtk.

Формирование и секвенирование библиотек геномов и метагеномов осуществляли на базе двух специализированных центров: ресурсного центра «Генетические технологии» Санкт-Петербургского университета и ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» ФГБНУ ВНИИСХМ.

Агрохимический анализ образцов ризосферной почвы проводили по общепринятым методикам, соблюдая общие требования к выполнению анализов, регламентированные ГОСТ 29269-91 [30]. Параметры удельной электропроводности – ЕС (мСм/см) и pH определяли по ГОСТ 26423-85 [28], содержание нитратного азота – N-NO₃ (мг/100 г почвы) – по ГОСТ 26951-86 [29], количество подвижного фосфора – P₂O₅ (мг/100г почвы) и калия – K₂O

(мг/100г почвы) по ГОСТ 26205-91 [26] (Метод Мачигина), содержание гумуса (%) определяли согласно ГОСТ 26213-91 [27].

2.4 Агротехника проведения полевых опытов

Полевые исследования, направленные на оценку влияния ассоциативных штаммов микроорганизмов на продуктивность растений, агрохимические показатели, биологическую активность ризосферы мягкой пшеницы, выполняли в 10-польном селекционном севообороте отдела интродукции и технологий в полеводстве и животноводстве ФГБУН «НИИСХ Крыма». Опытный участок располагался на черноземе южном степной зоны Крыма. Основная подготовка почвы заключалась в содержании черного пара, который выступал предшественником для озимой пшеницы. Весь комплекс агротехнических мероприятий по обработке пара и выращиванию пшеницы озимой выполнялся в соответствии с рекомендациями, варьировали исключительно изучаемые факторы. Полевые опыты закладывали в соответствии со стандартными методиками проведения полевых исследований [32]. Схема эксперимента по оценке влияния штаммов ассоциативных микроорганизмов на продуктивность сортов озимой пшеницы, биологическую активность, агрохимические показатели ризосферы отражена в таблице 1.

Таблица 1 – Схема полевого опыта по изучению влияния инокуляции семян штаммами ассоциативных микроорганизмов на продуктивность сортов пшеницы озимой

№ п/п	Сорт пшеницы (Фактор А)	Штаммы ассоциативных микроорганизмов (Фактор В)
1	Ермак	Р4 (<i>Pseudomonas fluorescens</i>) М3 и L1 (<i>Paenarthrobacter nitroguajacolicus</i>) В5 (<i>Bacillus wiedmanni</i>) R1 (<i>Agrobacterium tumefaciens</i>) С (контроль без обработки семян)
2	Багира	
3	Лидия	

Экспериментальные участки имели учетную площадь 25 м², повторность – четырехкратная, расположение делянок – систематическое со смещением. Для посева, проводимого во второй декаде октября (оптимальные сроки для зоны), применяли селекционную сеялку «Деметра». Программа наблюдений включала: фиксацию фенологических фаз, визуальную оценку состояния агроценоза, учет густоты стояния растений по всходам и перед уборкой. Структурный анализ предусматривал определение высоты растений, коэффициента кущения, массы зерна с одного растения, массы 1000 зерен и натуры зерна. Заключительным этапом был учет урожая. Математическую обработку экспериментальных данных выполняли методом дисперсионного анализа [32].

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Исходная биологическая активность черноземов разного типа в ризосфере районированных сортов озимой пшеницы

Среди ключевых факторов, определяющих разнообразие микробных сообществ ризосферы, выделяют почвенный и растительный компоненты. При этом на структуру микробиоценоза влияет не только вид растения, но и его сорт – генотип, который в значительной мере определяет структуру ризосферных бактериальных сообществ. Так, ключевое значение генотипа растения в формировании микробного комплекса ризосферы выявлено на примере ячменя [220] и риса [246]. Согласно данным, Донна с соавторами [162], видовой состав и обилие бактерий ризосферы пшеницы изменяются в зависимости от генотипа культуры и фазы онтогенеза растения.

В ходе исследований выявлены изменения численности микроорганизмов основных эколого-трофических групп в ризосфере пшеницы озимой на черноземе южном и обыкновенном, которые обусловлены реакцией конкретного сорта на почвенно-климатические условия выращивания [7; 46; 195]. Отмечена закономерность в распределении аммонификаторов – микроорганизмов, использующих в качестве источника питания преимущественно органические соединения азота, их численность в ризосфере сортов, выращенных на черноземе обыкновенном, превышала соответствующие показатели для чернозема южного в обеих зонах (таблица 2). Анализ выявил, что на южном черноземе степной зоны количество аммонификаторов у сорта Ермак составило 7,9 млн КОЕ/г почвы, что превышало их численность в 1,3 и 2,1 раза чем у сортов Лидия и Багира. В

целом наибольшая численность аммонификаторов выявлена в черноземе обыкновенном, из сортов лидировал Багира. Преобладание численности аборигенной микробиоты ризосферы установлено в черноземе южном степной зоны. Об этом свидетельствует превышение численности олиготрофов и педотрофов в ризосфере трех сортов. В этих условиях у сорта Ермак количество олиготрофных микроорганизмов превышало в 2,7 и 2,1 раза, чем у сорта Багира и Лидия соответственно и составило 4 млн КОЕ\г почвы. Минимальная численность данной группы микроорганизмов выявлена в черноземе обыкновенном на всех сортах.

Таблица 2 – Численность микроорганизмов ризосферы пшеницы озимой трех сортов в зависимости от условий выращивания, млн КОЕ / г почвы (2018 г.)

Сорт	Аммонификаторы	Амилолитики	Олиготрофы	Педотрофы
Чернозем южный, предгорная зона				
Багира	6,3±0,3	5,3±0,4	0,4±0,0	3,6±0,2
Ермак	7,9±0,4	4,8±0,3	1,0±0,1	3,2±0,3
Лидия	3,8±0,3	5,1±0,5	0,6±0,1	3,3±0,2
Чернозем южный, степная зона				
Багира	5,0±0,3	4,5±0,3	1,5±0,2	4,3±0,4
Ермак	11,5±0,4	12,6±0,7	4,0±0,3	8,1±0,3
Лидия	8,8±0,4	9,1±0,5	1,9±0,4	8,5±0,3
Чернозем обыкновенный				
Багира	15,3±0,6	4,4±0,2	0,5±0,1	3,1±0,2
Ермак	13,5±0,4	3,8±0,2	0,3±0,0	2,4±0,1
Лидия	11,2±0,4	3,6±0,1	0,2±0,0	2,6±0,4

Азотфиксирующие микроорганизмы выполняют важную роль в круговороте азота, способны положительно влиять на продуктивность сельскохозяйственных культур [172]. В предгорной зоне условия для развития данной группы микроорганизмов в ризосфере исследуемых сортов были схожими (рисунок 1). В степной зоне складывались более благоприятные

условия для развития азотфиксаторов в ризосфере сорта Ермак, так общая численность этих микроорганизмов превышала показатели, выявленные на черноземе южном предгорной зоны, в 2,7 раза, на черноземе обыкновенном – в 2,4 раза. Род бактерий *Azotobacter* традиционно рассматривают как индикатор биологической активности почвы его численность отражает интенсивность микробиологических процессов и потенциальную способность почвы к биологической фиксации азота [21].

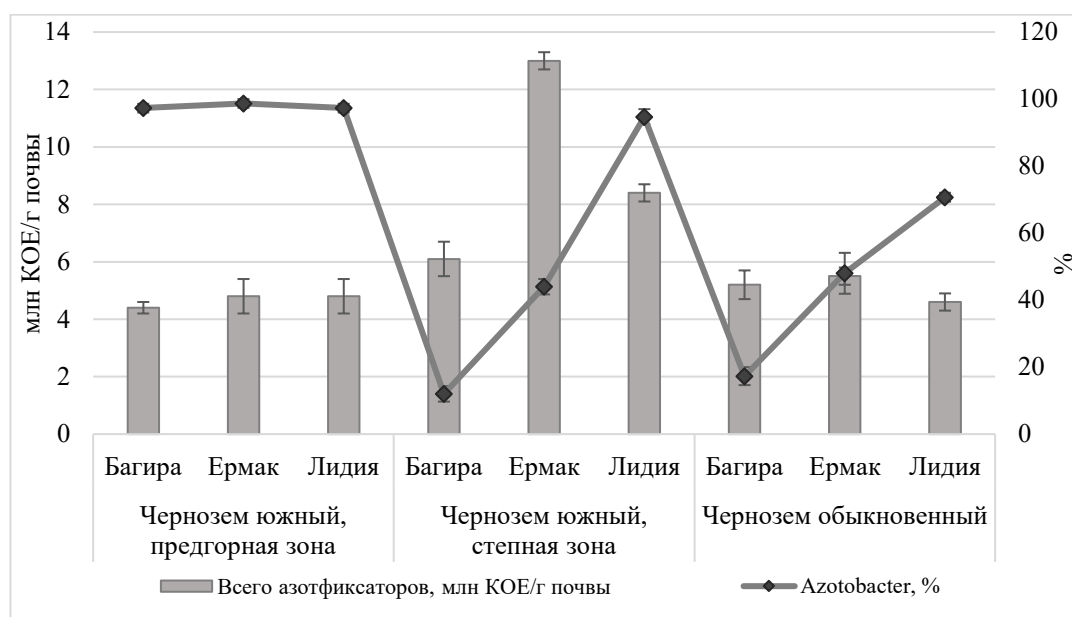


Рисунок 1 – Численность азотфиксирующих микроорганизмов ризосферы пшеницы озимой трех сортов в зависимости от условий ее выращивания (2018 г.)

Одинаково высокое обилие рода *Azotobacter* установлено в черноземе южном предгорной зоны на всех трех сортах. В черноземе южном степной зоны выявлена зависимость численности данного микроорганизма от сорта пшеницы озимой. Самое низкое количество наблюдалось в ризосфере сорта Багира, а высокое – в ризосфере сорта Лидия. Подобная тенденция выявлена также на черноземе обыкновенном.

Наибольшая численность актиномицетов и микромицетов выявлена в ризосфере пшеницы сорта Ермак, возделываемого на черноземе южном степной зоны по сравнению с двумя другими сортами (таблица 3).

Таблица 3 – Численность микроорганизмов ризосферы пшеницы озимой трех сортов в зависимости от условий выращивания, тыс. КОЕ /г почвы (2018 г.)

Вариант опыта (сорт)	Актиномицеты*	Микромицеты	Целлюлозолитики
Чернозем южный, предгорная зона			
Багира	0,2±0,1	29,5±3,4	6,7±0,8
Ермак	0,5±0,1	31,8±4,3	12,4±0,7
Лидия	0,5±0,1	15,5±1,0	15,9±2,8
Чернозем южный, степная зона			
Багира	0,5±0,0	21,7±1,5	13,8±3,3
Ермак	0,8±0,1	49,6±1,4	8,0±0,4
Лидия	0,5±0,1	29,2±3,0	40,0±6,6
Чернозем обыкновенный			
Багира	0,5±0,1	7,6±1,0	6,1±0,4
Ермак	0,2±0,0	17,3±2,1	19,7±2,8
Лидия	0,4±0,1	32,0±1,4	11,6±2,0

Примечание: * – млн КОЕ/г почвы

Численность актиномицетов в варианте сорта Ермак на черноземе южном степной зоны достигала 0,8 млн КОЕ/г почвы и превышала показатели, полученные для других исследуемых сортов в 1,6 раза. На черноземе обыкновенном прослеживалась противоположная тенденция, у сорта Ермак зафиксировано снижение численности актиномицетов в 2,5 раза по сравнению с сортом Багира (0,5 млн КОЕ/г почвы) и в 2 раза относительно сорта Лидия (0,4 млн КОЕ/г почвы).

В ризосфере сорта Лидия в условиях чернозема южного степной зоны отмечены наибольшие значения численности целлюлозолитических микроорганизмов – показатель составил 40 тыс. КОЕ/г почвы, что в 5 раз выше сорта Ермак и в 2,9 раза – сорта Багира. В условиях чернозема обыкновенного

превышение наблюдалось на сорте Ермак (19,7 тыс. КОЕ/г почвы), которое составило 3,2 и 1,7 раза относительно сортов Багира и Лидия, соответственно.

Максимальная численность микромицетов, выполняющих важную роль в процессе разложения растительных остатков и гумусообразования [39; 232] на черноземе южном степной зоны выявлена в ризосфере сорта Ермак, а в условиях чернозема обыкновенного – сорта Лидия и составила 32,0 тыс. КОЕ/г почвы.

Оценка обогащенности черноземов микроорганизмами проводилась с использованием шкалы [99] (приложение Г) на основании количественных данных по численности микроорганизмов ведущих эколого-трофических групп. Установлено, что для чернозема южного предгорной зоны характерна средняя, а степной – богатая степень обогащенности микроорганизмами, использующих в качестве питания преимущественно органический и минеральный азот соответственно. Чернозем обыкновенный отличается от чернозема южного очень богатой степенью обогащенности аммонифицирующими микроорганизмами. По численности микромицетов и актиномицетов изучаемые почвы можно отнести к богатой степени. Развитость же автохтонного микробного комплекса, представленного олиготрофными и педотрофными группами, в исследованных образцах была классифицирована как бедная и средняя степень обогащенности микроорганизмами.

С целью выявления внутренней структуры данных и группировки объектов по степени их однородности был применен кластерный анализ (рисунок 2). Примененный метод позволил количественно оценить степень сходства и различия между исследуемыми объектами, отражая отличия микробных сообществ в зависимости от условий выращивания. Анализ ризосферы *T. aestivum*, в зависимости от условий ее выращивания, по показателям численности микроорганизмов основных эколого-трофических групп показал, что по сорту Багира низкий уровень сходства (<3) в различных образцах чернозема.

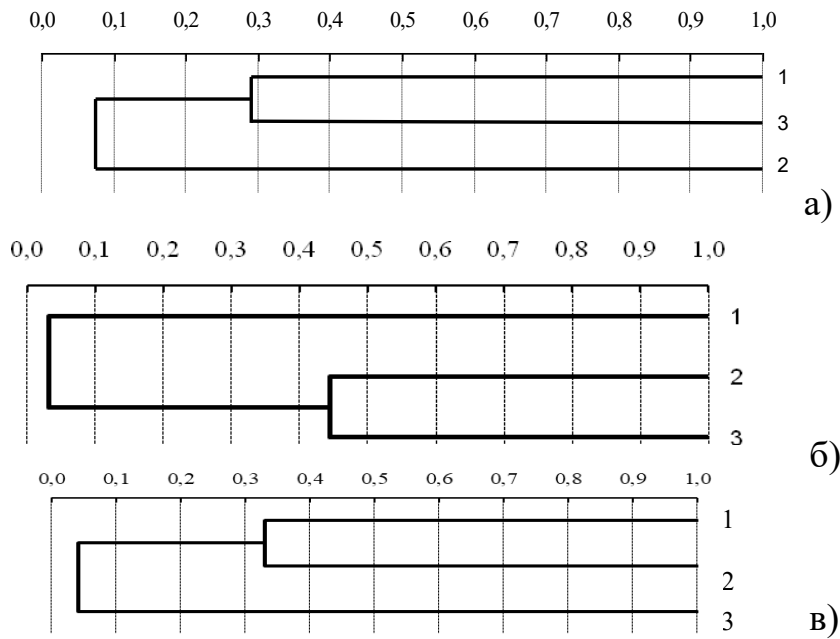


Рисунок 2 – Уровни сходства микробных сообществ ризосферы пшеницы сортов Багира (а), Ермак (б) и Лидия (в), выращенной в условиях чернозема южного степной зоны (1), предгорной зоны (2) и чернозема обыкновенного (3)

Сорт Ермак требователен к агрофону, более близкие условия выращивания обеспечены ему в черноземе обыкновенном и южном предгорной зоны, где установлено сходство по количеству микроорганизмов ризосферы на среднем уровне– 4,3. Значение 3,2 (средний уровень) наблюдалось также в микробоценозе ризосферы пшеницы озимой сорта Лидия при сравнении образцов, отобранных из чернозема южного степной зоны и чернозема обыкновенного. Это свидетельствует о сопоставимой структуре микробных сообществ в данных почвенных условиях для указанного сорта пшеницы.

Таким образом, анализ полученных данных выявил закономерные различия численности микроорганизмов основных эколого-трофических групп в ризосфере *T. aestivum*. Ключевым фактором, определявшим характер этих изменений, выступала реакция конкретного сорта на сложившиеся почвенно-климатические условия выращивания и обуславливала специфику формирования микробного сообщества в ризосфере.

3.2 Таксономическая структура прокариотного сообщества черноземов как основа их биологической активности

Изменения таксономического состава микробных сообществ ризосферы, как известно, обусловлены совокупным влиянием вида и сорта растения, а также типа почвы [139; 158; 162; 244]. В составе прокариотного сообщества ризосферы пшеницы озимой преобладали представители десяти фил с долей свыше 1 %: из домена Археи – *Crenarchaeota*, из домена Бактерии – *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Chloroflexi*, *Firmicutes*, *Gemmatimonadetes*, *Planctomycetes*, *Proteobacteria* и *Verrucomicrobia* (рисунок 3).

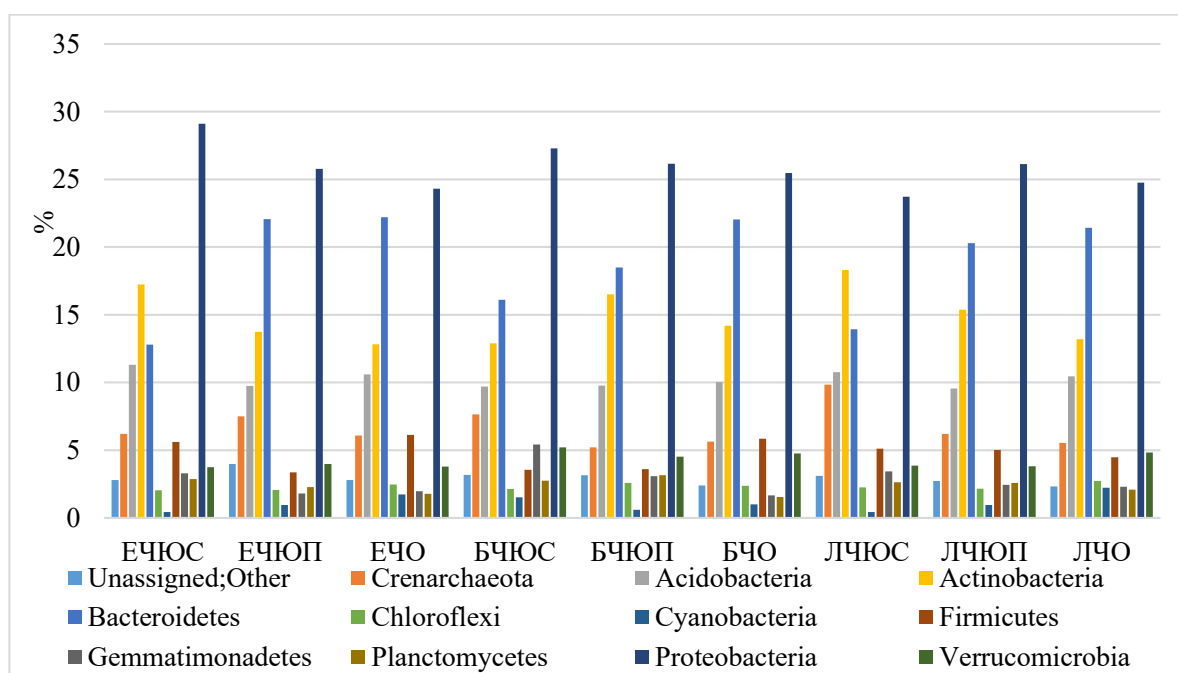


Рисунок 3 – Таксономическая структура микробиома (на уровне фил) ризосферы пшеницы сортов Ермак (Е), Багира (Б) и Лидия (Л), выращенных в условиях чернозема южного степной (ЧЮС), предгорной зоны (ЧЮП) и чернозема обыкновенного (ЧО) (2018 г.)

В составе прокариотного сообщества черноземов присутствовала также доля микроорганизмов неатрибутируемого домена – от 2,4 до 4,0 %. Среди всех

фил наиболее высокой долей представленности характеризовалась *Proteobacteria*, что типично для микробных комплексов почвенного профиля [228]. Зависимость обилия этой филы от генотипа пшеницы выражалась в следующих значениях: сорт Багира – 25,5–27,3 %, сорт Ермак – 24,3–29,1 %, сорт Лидия – 23,7–26,1 [7].

Выявлена значительная вариабельность доли *Bacteroidetes* – от 13,9 % в ризосфере сорта Лидия на черноземе южном степной зоны, максимальные значения на сорте Ермак на том же типе почвы, но предгорной зоны.

Филы *Firmicutes*, *Planctomycetes*, *Chloroflexi*, *Cyanobacteria*, *Verrucomicrobia* составили доли менее 7 %, наблюдалась умеренная вариабельность без резких отличий. По филе *Acidobacteria* выявлена умеренная стабильность: 9,5–11,3 %, максимум в черноземе южном степной зоны, ризосфере сорта Ермак.

Высокая степень функционального разнообразия микробного сообщества, на которую указывает присутствие автотрофов, в частности, цианобактерий, способствует дифференциации экологических ниш в почвенной среде и увеличению разнообразия протекающих микробиологических процессов. [70]. Максимальная доля филы *Cyanobacteria* выявлена на сорте Лидия в черноземе обыкновенном.

Восстановление сульфатов – значимый этап почвенного цикла серы, в котором, согласно современным данным, принимают участие археи филы *Crenarchaeota* [175]. Результаты таксономического анализа ризосферы сорта Багира показали, что чернозем южный степной зоны характеризовался максимальной долей *Crenarchaeota* – 7,7 %. Это превышало соответствующие значения для чернозема южного предгорной зоны и чернозема обыкновенного в 1,5 и 1,4 раза соответственно. Та же закономерность прослежена и для филы *Gemmatimonadetes*, ее наибольшая доля – 5,4 % установлена на черноземе южном степной зоны в ризосфере сорта Багира, при этом в ризосфере Ермак предгорной зоны чернозема южного доля составила 1,8 %.

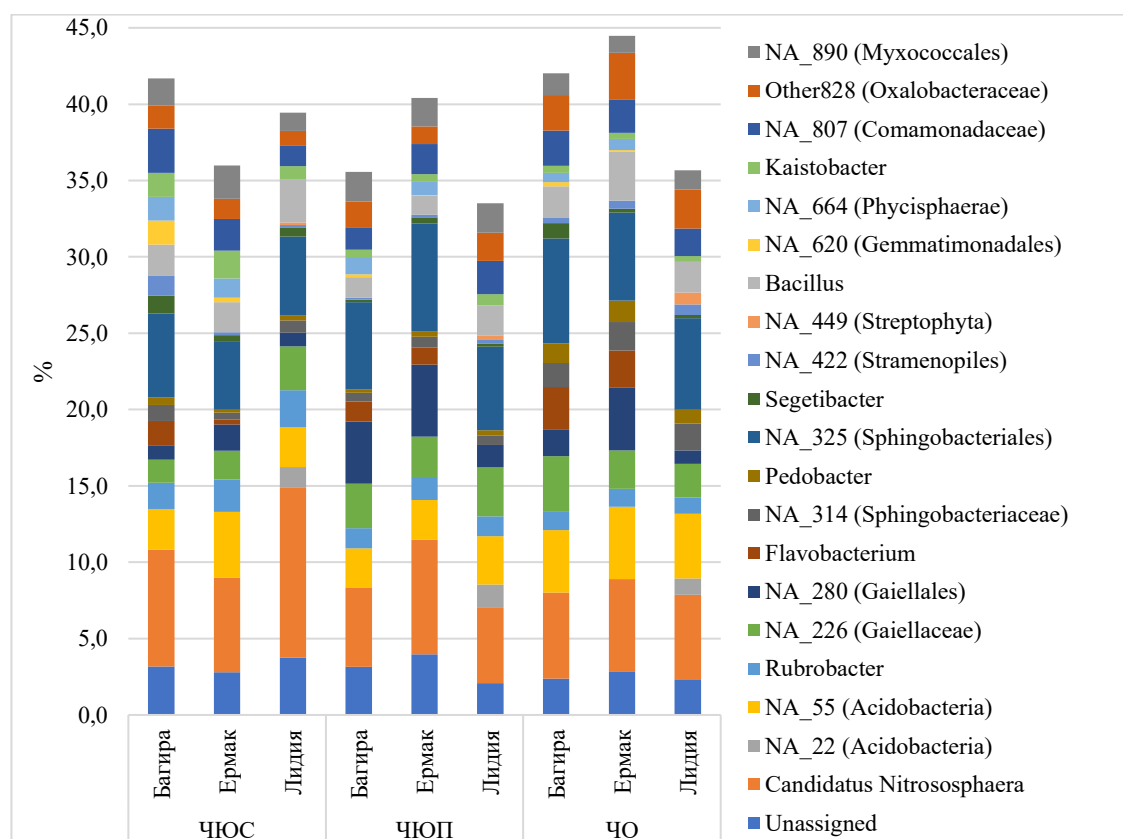
Фила *Actinobacteria* – вторая по представленности группа (12,8–18,3 %), наибольшая доля также определена на сорте Лидия черноземе южном степной зоны – 18,3 %, минимум в ризосфере сорта Ермак чернозема обыкновенного. Известно, что *Actinobacteria* многочисленна в микробиомах почв теплого климата, представители этой филы обладают выраженной устойчивостью к дефициту влаги [72, 174]. Наиболее низкий ГТК среди исследованных образцов был характерен для чернозема южного степной зоны, где обилие *Actinobacteria* оказалось максимальным, за исключением ризосферы сорта Багира, в которой эта тенденция не проявилась.

Деструкция сложных органических субстратов в пахотных почвах – ключевая функция бактерий филы *Firmicutes* [153]. Метагеномный анализ показал, что у сорта Лидия доля *Firmicutes* слабо зависела от почвенных условий, разница между черноземом обыкновенным (4,5 %) и черноземом южным степной зоны (5,1 %) оказалась минимальной. Напротив, доля данной филы в ризосфере сортов Багира и Ермак зависела от почвенных условий, в черноземе обыкновенном доля была выше относительно чернозема южного предгорной зоны почти в 2 раза.

Структура микробиома на уровне фил характеризуется устойчивым доминированием *Proteobacteria* и *Actinobacteria* при выраженной вариабельности *Bacteroidetes* и отдельных фил (*Crenarchaeota*, *Gemmatimonadetes*), доля неатрибутируемых таксонов остается низкой и составила менее 4 %.

Представленность рода *Bacillus* находилась в диапазоне 1,24–2,89 % (рисунок 4). Представленный род является одним из наиболее распространенных бактерий, встречающихся в почве, имеющий огромное генетическое и метаболическое разнообразие. *Bacillus* spp. выполняют множество функций в почвенной экосистеме, начиная от круговорота питательных веществ и до повышения стрессоустойчивости растений [126]. Наибольшая представленность данного рода выявлена в черноземе южном степной зоны у сорта Лидия и составила 2,9 %. В ризосфере растений бактерии

рода *Pseudomonas* продуцируют широкий спектр биологически активных метаболитов: антибиотики, сидерофоры, вещества, стимулирующие рост, они успешно конкурируют с другими микроорганизмами и адаптируются к стрессам окружающей среды. Кроме того, псевдомонады отвечают за естественную супрессивность некоторых почвенных патогенов [150; 238]. Доля рода *Pseudomonas* находилась в пределах 0,11–0,65 %. У сортов Ермак и Багира она была максимальной в черноземе южном степной зоны, а у сорта Лидия в предгорной зоне.



Примечание: NA – неатрибутируемые домены.

Рисунок 4 – Таксономическая структура микробиома (на уровне родов) ризосферы пшеницы трех сортов, выращенных в условиях чернозема южного степной (ЧЮС), предгорной зоны (ЧЮП) и чернозема обыкновенного (ЧО) (2018 г.)

Среди выделенных таксонов роды *Paenarthrobacter* и *Agrobacterium* характеризовались минимальной долей. Род *Candidatus Nitrososphaera*, принимающий активное участие в процессе нитрификации, выявлен как

доминирующий в черноземе южном степной зоны в ризосфере сорта Лидия. Это позволяет предположить, что в данных условиях азотный цикл протекает более интенсивно. В черноземе обыкновенном различий между сортами по представленности *Candidatus Nitrososphaera* не выявлено.

Flavobacterium не был выявлен в ризосфере сорта Лидия независимо от почвы. Также зафиксировано наибольшая его представленность в ризосфере сортов Ермак и Багира на черноземе обыкновенном.

Таким образом, можно предположить, что реакция сорта на почвенно-климатические факторы выращивания выступала ключевым фактором, определявшим направленность изменений в структуре микробиома ризосферы трех сортов озимой пшеницы на черноземах южном и обыкновенном. Основу прокариотного сообщества ризосферы пшеницы на исследованных черноземах составляли преимущественно десять фил. Из домена архей доминировала в сообществе ризосферы у исследуемых сортов фила *Crenarchaeota*, а из домена бактерий – *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Chloroflexi*, *Firmicutes*, *Gemmatimonadetes*, *Planctomycetes*, *Proteobacteria* и *Verrucomicrobia*. *Proteobacteria*.

3.3 Выделение и молекулярно-генетическая идентификация ассоциативных штаммов ризобактерий с высоким агрохимическим потенциалом

Выделение новых ассоциативных штаммов микроорганизмов осуществляли из ризосферной почвы. В результате наших исследований штаммы бактерий с высоким ассоциативным потенциалом были отобраны из апикальной части корня пшеницы озимой, выращенной в различных регионах: штамм L1 – из чернозема обыкновенного (Ростовская область), R1 – из чернозема южного предгорной зоны, M3, P4, B5 – из чернозема южного

степной зоны Крыма [34]. Лабораторные исследования выявили наиболее активные штаммы по влиянию на ростстимуляцию растений, которые были идентифицированы по генам 16S рРНК (стандартный маркер) и *gyrase B* (обладает более высокой вариабельностью, часто используется для реклассификации). В результате данного анализа нововыделенные штаммы определены как следующие таксоны: *Agrobacterium tumefaciens* R1 (Smith and Townsend 1907) Conn 1942 (последовательность зарегистрирована в GenBank NCBI под номером [MH443751]), *Bacillus wiedmannii* B5 (Miller et al. 2016) [MH443749], *Paenarthrobacter nitroguajacolicus* M3 (Kotoucková et al. 2004) Busse 2016 [MH443746], *Paenarthrobacter nitroguajacolicus* L1 [MH443747], *Pseudomonas fluorescens* P4 [MH443745].

Изначально в ходе исследований с поверхности корней пшеницы сорта Багира, выращенной на черноземе южном, было выделено 9 морфологических типов бактерий. Минимальная частота обнаружения морфотипов составила 17% и достигала 100 %. Ризосфера сорта Ермак отмечена как наиболее богатая на морфологические виды, всего обнаружено 14 морфотипов. Обилие микроорганизмов при схожей частоте встречаемости достигало 33 %. Пять морфотипов из 14 отличались высокой частотой встречаемости, достигая 100 % с выраженным обилием до 35 % [7]. Дальнейшая работа была связана с очисткой бактериальных культур с последующим первичным скринингом в лабораторных и вегетационных опытах, по результатам которой отобрано пять штаммов, перспективных с точки зрения положительного влияния на ключевые показатели развития проростков: всхожесть, энергию прорастания, биомассу проростков озимой пшеницы [121; 123]. Так, в лабораторном эксперименте установлено, что штаммы *B. wiedmannii* B5 и *A. tumefaciens* R1 обеспечивали увеличение массы надземной части проростков пшеницы сорта Багира в 1,8 раза по сравнению с контрольными значениями.

В таблице 4 показаны результаты секвенирования, использованного для идентификации штаммов.

Таблица 4 – Результаты идентификации штаммов, выделенных с апикальной части корней пшеницы (2018 г.)

Штамм	Ближайший гомолог в ГенБанке	Уровень гомологий, %	Семейство	Класс	Фила
<i>Bacillus wiedmannii</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>Arthrobacteroxydans</i> Z1659 [EU086826.1]	99	<i>Micrococca- ceae</i>	<i>Actinobact eria</i>	<i>Actinobacteria</i>
<i>Paenarthrobacter nitroguajacolicus</i> M3 [MH443746]	<i>Paenarthrobacternitro guajacolicus</i> BF-R19 [KY292435.1]	99			
<i>Paenarthrobacter nitroguajacolicus</i> L1 [MH443747]	<i>Paenarthrobacternitro guajacolicus</i> G2-1 [NR_027199.1]	99			
<i>Sinorhizobium meliloti</i> B2 [MH443743]	<i>Sinorhizobiummeliloti</i> LCK12 [KU753918.1]	99	<i>Rhizobiaceae</i>	<i>Alpha- proteobact eria</i>	<i>Proteobacteria</i>
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> R1 [MH443751]	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> HAMBI 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>Pseudomona- daceae</i>	<i>Gamma- proteobact eria</i>	
<i>Pseudomonas fluorescens</i> P4 [MH443745]	<i>Pseudomonas fluorescens</i> 90F12-2 [KT695840.1]	99			

Современные технологии массивного параллельного секвенирования (next-generation sequencing, NGS) позволяют одновременно анализировать миллионы фрагментов ДНК, получать данные о полногеномных последовательностях широкого спектра микроорганизмов и, как следствие, выводить исследования на качественно новый уровень. Исходя из этого для более глубокой характеристики, чтобы уточнить их таксономическое положение и выявить функциональные особенности, следующим этапом работы стало определение нуклеотидных последовательностей полных геномов

штаммов. Секвенирование проводили на платформе Illumina, сборку геномных последовательностей выполняли с использованием программ CLC GenomicWorkbench и Flye в соответствии со спецификой данных и поставленными задачами.

Как показал статистический анализ данных собранных геномов значения их характеристик оказались схожими с показателями других штаммов аналогичного вида, депонированных в GenBank. Штаммы R1, B5, M3, L1 отличались по количеству контигов от 28 до 66 (таблица 5).

Таблица 5 – Результаты статистических данных о собранных геномах штаммов

Штамм бактерий	GC состав, %	Средняя длина ридов, п.н.	Количество контигов, шт.	Общая длина контигов, п.н.	N50 контигов, п.н.
<i>A. tumefaciens</i> R1	59,4	271,6	28	5435015	654519
<i>B. wiedmannii</i> B5	34,9	267,1	66	5808458	161041
<i>P. nitroguajacolicus</i> M3	62,4	277,4	28	4788008	332077
<i>P. nitroguajacolicus</i> L1	61,7	277,6	39	4972536	245565
<i>P. fluorescens</i> P4	60,4	1930910	276,3	255	6230788

Геномы выделенных штаммов были аннотированы в системе RAST со следующими идентификаторами: *P. nitroguajacolicus* L1 – 211146.8; *P. nitroguajacolicus* M3 – 211146.9; *A. tumefaciens* R1 – 358.223; *B. wiedmannii* B5 – 1428.1083.

Результаты функциональной аннотации геномов исследуемых штаммов, представленные в таблице 6, демонстрируют заметную вариабельность по всем четырем параметрам. Наибольшим функциональным разнообразием характеризовался штамм *B. wiedmannii* B5, его геном включал 482 подсистемы и 5916 кодирующих последовательностей при максимальном среди всех штаммов количестве генов РНК – 104. Покрытие подсистем для этого штамма составило 42 %, что также оказалось наивысшим показателем в выборке. Штамм *A. tumefaciens* R1 занимал промежуточное положение: 361 подсистема, 5350 кодирующих последовательностей и 47 генов РНК при покрытии 29 %. Два штамма *P. nitroguajacolicus* – M3 и L1 показали идентичные значения по

числу подсистем (314), генов РНК (59) и проценту покрытия (27 %). Различие между ними заключалось лишь в количестве кодирующих последовательностей: у штамма M3 их оказалось на 240 больше, чем у L1 (4744 против 4504).

Таблица 6 – Результаты статистических данные о полных геномах штаммов из системы RAST

Штамм	Количество			Покрытие подсистем, %
	подсистем	кодирующих последовательностей	генов РНК	
<i>A. tumefaciens</i> R1	361	5350	47	29
<i>B. wiedmannii</i> B5	482	5916	104	42
<i>P. nitroguajacolicus</i> M3	314	4744	59	27
<i>P. nitroguajacolicus</i> L1	314	4504	59	27

Количество генов, ассоциированных с азотным обменом, варьировало в сравнительно узком диапазоне – от 22 до 34. При этом наибольшее число генов, отвечающих за метаболизм фосфора (102) выявлено у штамма *B. wiedmannii* B5.

У штамма *A. tumefaciens* R1 с помощью платформы RAST охват аннотацией составил 29 % CDS, которые отнесены к 361 функциональной подсистеме (рисунок 5). Наибольшая представленность отдельных функциональных категорий отражает участие генома штамма *A. tumefaciens* R1 в процессах клеточного метаболизма, транспорта веществ, синтеза и преобразования соединений, а также в обеспечении адаптации микроорганизма к условиям окружающей среды. В частности 58 CDS относятся к подвижности и хемотаксису, 77 CDS – к адаптации к стрессовым воздействиям, а 34 CDS связаны с устойчивостью к антибиотикам и токсическим соединениям. При этом анализ генома не выявил вирулентных генов, связанных с переносом ДНК в растительные клетки, если бы такие гены были, то присутствовали бы Ri- и Ti-плазмиды [170], а также генов нодуляции и фиксации азота. Это согласуется с известной биологической активностью представителей вида *A. tumefaciens* и

может быть значимым для оценки его роли в ризосфере и потенциальном применении в агробиотехнологии [117].

У штамма *B. wiedmannii* B5 количество кодирующих последовательностей (CDS) 5916, превышает показатели остальных исследованных штаммов на 9,6–19,2 %, что может свидетельствовать о более широких метаболических возможностях этого микроорганизма.

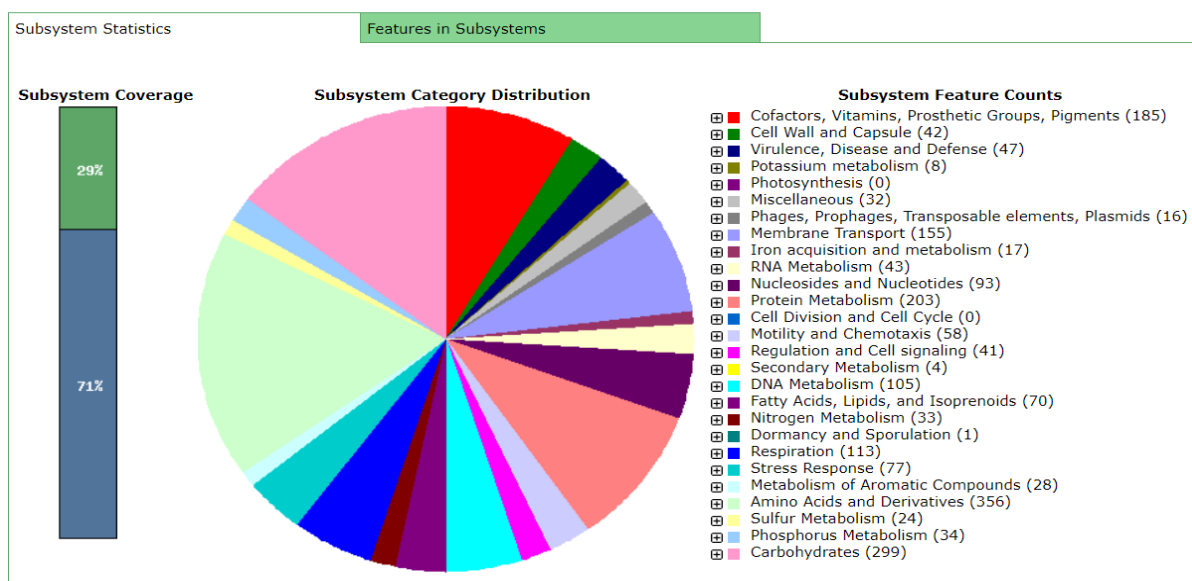


Рисунок 5 – Доли подсистем RAST у штамма *Agrobacterium tumefaciens* R1 (метод аннотации RASTtk)

В функциональной структуре генома *B. wiedmannii* B5 существенную часть составляют гены, связанные с метаболизмом аминокислот и их производных, углеводов, липидов, витаминов и вторичных метаболитов (рисунок 6). Энтомобактериальная активность у вида *B. thuringiensis*, у близкородственного представителя нововыделенного штамма, обусловлена наличием генов эндотоксина, локализованных на плазмидах. В результате аннотации генома штамма *B. wiedmannii* B5 в системе RAST какие-либо плазмиды не выявлены. Также, благодаря недавним исследованиям стало известно, что у данного вида микроорганизма выявлена противогрибковая активность против фитопатогенного гриба *Rhizoctonia solani*, который является возбудителем различных заболеваний растений [216]. Процент ингибирования

роста *R. solani* составил 42 % в сравнении с контролем. Также известно его ростстимулирующее действие за счет продукции фитогормонов, растворения фосфатов и фиксации азота, индукция засухоустойчивости пшеницы [126; 132].

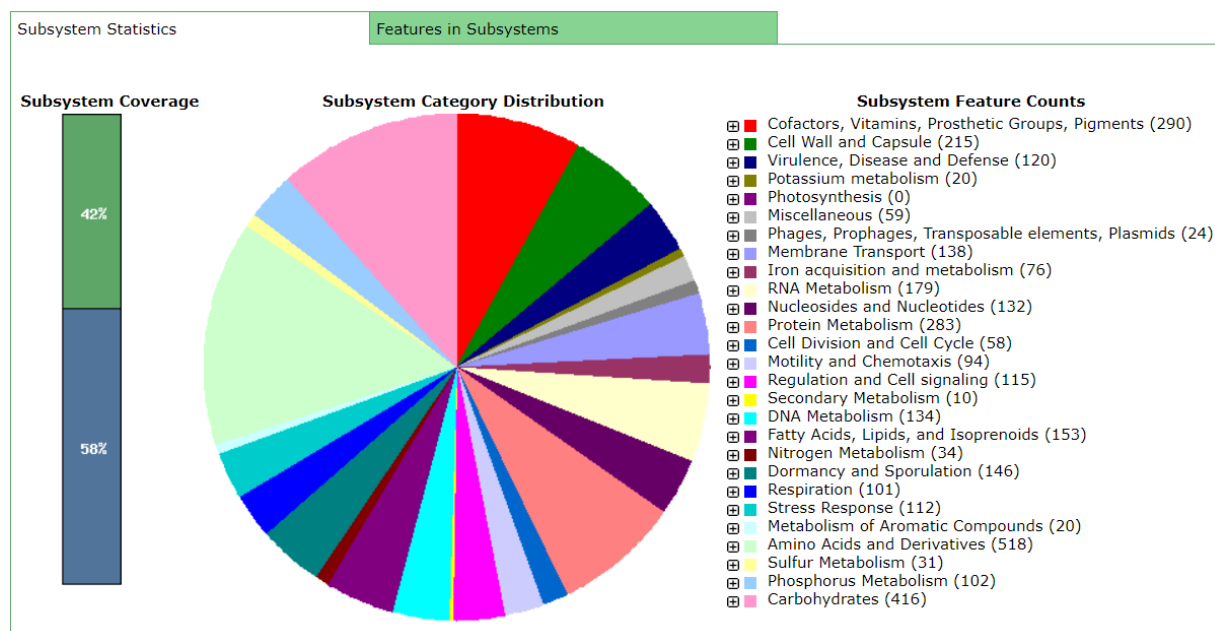


Рисунок 6 – Доли подсистем RAST у штамма *Bacillus wiedmannii* B5 (метод аннотации RASTtk)

Анализ полученных данных установил, что для штамма *P. nitroguajacolicus* M3 указано 4744 CDS, 314 подсистем, 59 генов РНК (приложение Д, рисунок 1). Функциональный профиль штамма характеризуется представленностью генов, участвующих в основных процессах клеточного метаболизма и обеспечения жизнедеятельности микроорганизма. В частности, в составе генома выявлено 80 функций, связанных с мембранным транспортом, 92 – метаболизмом ДНК, 31 – РНК, 33 – обменом фосфора и 197 – с метаболизмом белка. Эти данные сопоставимы с соответствующими значениями у близкого по таксономической принадлежности штамма *P. nitroguajacolicus* L1 (приложение Д, рисунок 2). При этом функциональная структура M3 характеризуется меньшей представленностью ряда метаболических подсистем по сравнению со штаммом L1. Особое значение для оценки потенциального взаимодействия штамма с растением имеет наличие

генетических детерминант, связанных с продукцией фитогормонов. По данным аннотации геномов все исследованные штаммы характеризовались наличием генетических групп, потенциально связанных с их продукцией. Наибольшее их количество выявлено у штамма *P. nitroguajacolicus* L1 – 9, у штамма M3 этот показатель составил 7, тогда как у *B. wiedmannii* B5 и *A. tumefaciens* R1 обнаружено по 4 группы генов, отвечающих за синтез ауксинов [91; 121], что может указывать на более выраженный рост стимулирующий потенциал представителей вида *P. nitroguajacolicus*.

Таким образом, в результате проведенных исследований выделены с апикальной части корней *T. aestivum* ассоциативные штаммы бактерий, наиболее эффективные и перспективные для дальнейшей биотехнологии ризосферы агроценозов пшеницы и идентифицированы как *Bacillus wiedmannii*, *Paenarthrobacter nitroguajacolicus*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Pseudomonas fluorescens*.

3.4 Влияние инокуляции ассоциативными ризобактериями на биологическую активность чернозема южного и продуктивность пшеницы озимой

3.4.1 Изменение численности эколого-трофических групп микроорганизмов и направленности минерализационных процессов в ризосфере под влиянием инокуляции

Оценка численности почвенных микроорганизмов в рамках основных эколого-трофических групп обеспечила возможность определить, как именно исследуемые штаммы ассоциативных с пшеницей бактерий воздействуют на становление микробного сообщества ризосферы чернозема южного [17; 176]. Двухфакторный дисперсионный анализ подтвердил статистическую значимость

влияния инокуляции штаммами и сорта пшеницы в условиях конкретного вегетационного года на большинство исследованных групп микроорганизмов. Это свидетельствует о том, что динамика микробного сообщества в ризосфере определяется не только биологическим воздействием вносимых штаммов, но и сортовыми особенностями растения, а также изменчивостью погодных и агроэкологических условий года проведения опыта.

Аммонификаторы играют ключевую роль в минерализации органического азота и обеспечении растений доступным аммонийным азотом [219; 243]. Данные таблицы 7 показывают, что предпосевная инокуляция семян исследуемыми штаммами оказывала выраженное, но неодинаковое по сортам и годам исследования влияние на численность аммонифицирующих и амилалитических микроорганизмов ризосферы пшеницы.

Таблица 7 – Влияние штаммов с высоким ассоциативным потенциалом на численность микроорганизмов ризосферы пшеницы озимой, млн КОЕ/г почвы (полевой опыт)

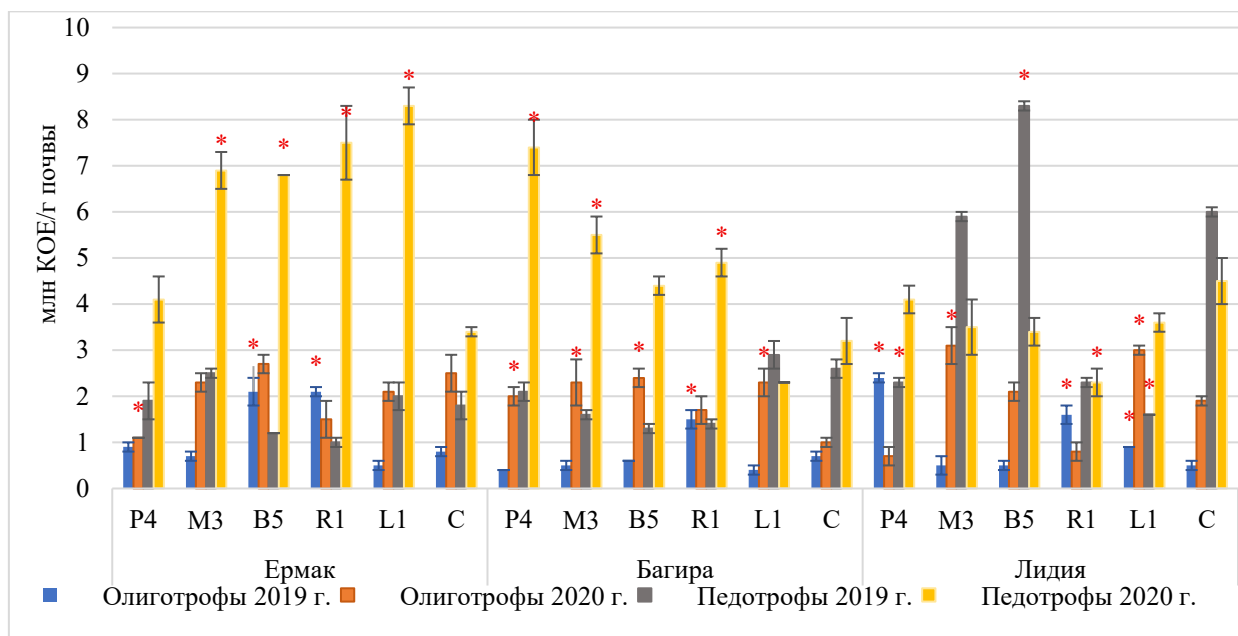
Вариант опыта		Аммонификаторы		Амилोलитики	
		2019 г.	2020 г.	2019 г.	2020 г.
Ермак	P4	*5,2 ± 0,3	*2,3 ± 0,2	2,9 ± 0,4	3,4 ± 0,5
	M3	*2,3 ± 0,2	3,7 ± 0,3	*4,5 ± 0,1	*5,5 ± 0,3
	B5	*4,7 ± 0,1	*2,3 ± 0,3	*5,0 ± 0,3	4,0 ± 0,0
	R1	5,7 ± 0,1	5,4 ± 0,7	*7,1 ± 0,2	*5,0 ± 0,3
	L1	*9,2 ± 0,2	2,9 ± 0,3	*8,1 ± 0,3	*6,5 ± 0,7
	C	6,9 ± 0,5	3,7 ± 0,4	2,4 ± 0,1	3,7 ± 0,2
Багира	P4	*5,7 ± 0,1	*3,8 ± 0,4	*6,4 ± 0,3	*3,4 ± 0,1
	M3	*4,0 ± 0,2	2,6 ± 0,4	3,8 ± 0,1	*5,3 ± 0,7
	B5	*4,4 ± 0,1	3,0 ± 0,6	*10,9 ± 0,1	*5,5 ± 0,1
	R1	*4,0 ± 0,1	1,6 ± 0,3	*6,8 ± 0,1	*5,3 ± 0,6
	L1	*10,6 ± 0,1	1,8 ± 0,1	4,6 ± 0,4	2,6 ± 0,3
	C	7,5 ± 0,3	1,7 ± 0,3	4,0 ± 0,3	2,0 ± 0,1
Лидия	P4	*7,1 ± 0,2	2,9 ± 0,4	*8,9 ± 0,2	*2,8 ± 0,5
	M3	*5,8 ± 0,1	2,0 ± 0,2	*4,1 ± 0,2	*2,2 ± 0,2
	B5	*9,4 ± 0,1	*5,1 ± 0,5	*8,6 ± 0,7	*4,4 ± 0,2
	R1	*2,7 ± 0,3	*6,3 ± 1,2	*3,6 ± 0,5	*2,4 ± 0,4
	L1	4,4 ± 0,3	1,5 ± 0,2	*3,4 ± 0,3	*2,6 ± 0,2
	C	3,6 ± 0,1	2,4 ± 0,5	6,7 ± 0,2	6,5 ± 0,2

Примечание: * – статистическая значимость различий ($p < 0,05$) относительно контроля; P4 – *Ps. fluorescens*, M3 и L1 – *P. nitroguajacolicus*, B5 – *B. wiedmanni*, R1 – *A. tumefaciens*, C – контроль без обработки семян.

В условиях 2019 года у сорта Ермак численность аммонификаторов достоверно увеличивалась при применении штамма L1 – до 9,2 млн КОЕ/г почвы, что на 33 % выше контроля. У сорта Багира аналогичный вариант обеспечил повышение показателя до 10,6 млн КОЕ/г почвы или на 41 % относительно контроля. На сорте Лидия применение штамма B5 обеспечило рост численности аммонификаторов до 9,4 млн КОЕ/г почвы. В 2020 году, отличавшемся менее благоприятными условиями влагообеспечения и повышенным температурным режимом, характер влияния изменился: у сорта Лидия максимальное значение отмечено при использовании штамма R1 6,3 млн КОЕ/г почвы, что превышало контроль почти в 3 раза. На сорте Багира применением штамма P4 оказало значимое влияние на повышение численности аммонификаторов и составило 3,8 млн КОЕ/г почвы. На сорте Ермак выявлена тенденция снижения данной группы микроорганизмов в большинстве вариантов инокуляции.

Численность амилалитической группы, отражающей потенциальную способность микробного сообщества почвы иммобилизовать азот в микробной биомассе [56], также изменялась под влиянием применения штаммов и зависела от условий года. Наиболее выраженная реакция наблюдалась у сортов Ермак и Багира. У сорта Ермак в 2019 году применение L1 увеличило численность амилалитиков до 8,1 млн КОЕ/г почвы, что в 3,4 раза превышало контрольный уровень, в остальных вариантах также количество возрастало. У сорта Лидия выявлена различная реакция в зависимости от условий года. Так в 2019 году в вариантах со штаммами P4 и B5 выявлено повышение численности амилалитиков, при этом в 2020 году, во всех вариантах инокуляции установлено снижение показателя относительно контроля в диапазоне от 33,8 до 67,7%. В силу своей высокой сенситивности, микробиом служит ранним маркером экологических изменений, реагируя на них первыми. Полученные результаты показывают, что характер изменений существенно определялся сочетанием трех факторов: сорта озимой пшеницы, используемого бактериального штамма и погодных условий года.

В контрольных вариантах численность олиготрофов у сорта Ермак составляла соответственно 0,8 и 2,5 млн КОЕ/г почвы, у сорта Багира – 0,7 и 1,0 млн КОЕ/г, а у сорта Лидия – 0,5 и 1,9 млн КОЕ/г почвы в условиях 2019 и 2020 годов соответственно (рисунок 7).



Примечание: * – статистическая значимость различий ($p < 0,05$) относительно контроля; P4 – *Ps. fluorescens*, M3 и L1 – *P. nitroguajacolicus*, B5 – *B. wiedmanni*, R1 – *A. tumefaciens*, C – контроль без обработки семян.

Рисунок 7 – Влияние штаммов с высоким ассоциативным потенциалом на численность микроорганизмов ризосферы пшеницы озимой, млн КОЕ/г почвы (полевой опыт)

Таким образом выявлено повышение данной группы микроорганизмов в неблагоприятных засушливых погодных условиях. В 2019 году у сорта Ермак статистически значимое увеличение показателя отмечено при применении штаммов B5 и R1 – до 2,1 млн КОЕ/г почвы против 0,8 млн КОЕ/г в контроле. У сорта Багира существенное повышение наблюдалось только при использовании штамма R1, когда численность олиготрофов достигла 1,5 млн КОЕ/г почвы, что более чем в два раза превышало контрольное значение. У сорта Лидия применение P4 увеличивало показатель до 2,4 млн КОЕ/г, а R1 и L1 – соответственно до 1,6 и 0,9 млн КОЕ/г почвы, причем различия с контролем

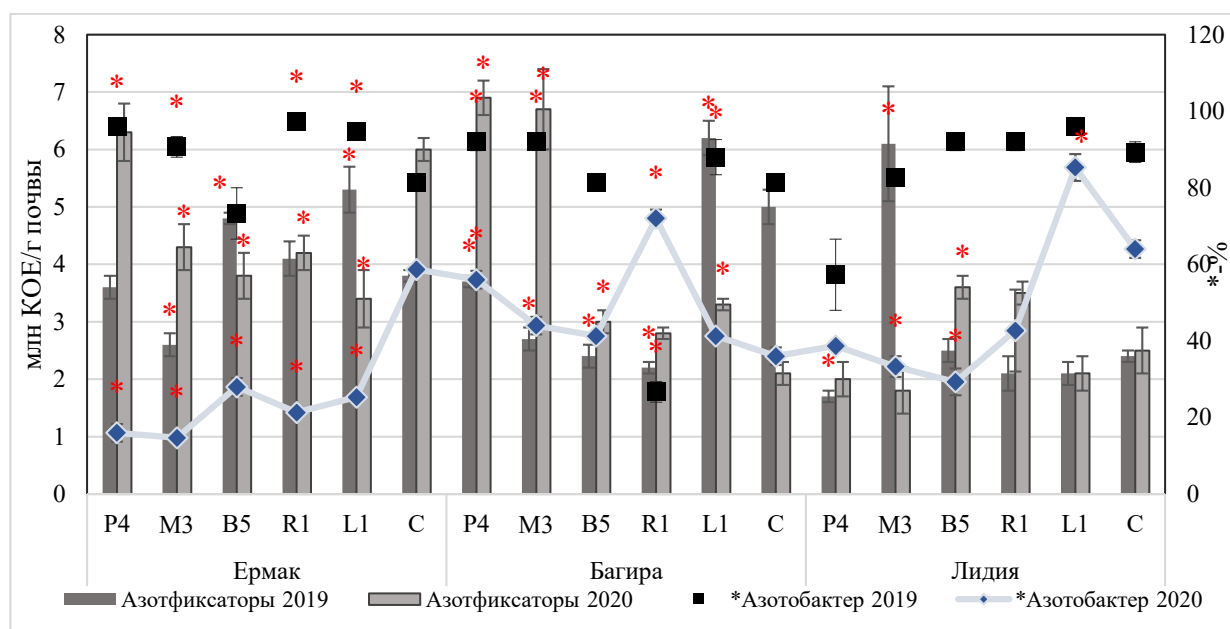
были статистически значимыми. Следовательно характер ответа на инокуляцию определялся не столько самим фактом внесения штамма, сколько взаимодействием конкретного штамма с сортом растения.

В 2020 г. у сорта Ермак только применение Р4 сопровождалось статистически значимым отклонением от контроля – численность олиготрофов составила 1,1 млн КОЕ/г почвы при 2,5 млн КОЕ/г в контроле. При этом значения в вариантах МЗ, В5, R1 и L1 находились в пределах 1,5–2,7 млн КОЕ/г почвы. У сорта Багира, напротив, большинство вариантов характеризовалось увеличением численности олиготрофов относительно контроля: при применении штамма Р4 показатель достигал значимых 2,0, МЗ – 2,3, В5 – 2,4, при применении штамма L1 – 2,3 млн КОЕ/г почвы.

У сорта Лидия наибольшие значения отмечены при инокуляции МЗ и L1 – 3,1 и 3,0 млн КОЕ/г почвы соответственно, тогда как применение Р4 и R1 сопровождалось снижением показателя до 0,7–0,8 млн КОЕ/г почвы.

Показатели педотрофной группы также демонстрировали выраженную межгодовую и сортовую разницу. В 2019 г. у сорта Ермак численность педотрофов в опытных вариантах находилась в пределах 1,0–2,5 млн КОЕ/г почвы при 1,8 млн КОЕ/г в контроле. На сорте Багира значения составляли 1,3–2,9 млн КОЕ/г при контрольном уровне 2,6 млн КОЕ/г. На сорте Лидия диапазон был значительно шире – от 1,6 до 8,3 млн КОЕ/г почвы. В 2020 г. изменение численности педотрофов стало более выраженным, особенно на сортах Ермак и Багира. У сорта Ермак применение МЗ, В5, R1 и L1 сопровождалось достоверным увеличением показателя до 6,8–8,3 млн КОЕ/г почвы при 3,4 млн КОЕ/г в контроле. У сорта Багира статистически значимое увеличение наблюдалось при применении Р4, МЗ и R1, численность педотрофов достигала соответственно 7,4, 5,5 и 4,9 млн КОЕ/г почвы при 3,2 млн КОЕ/г в контроле. При использовании штамма В5 показатель также превышал контроль, но на уровне тенденции. У сорта Лидия в 2020 г. реакция педотрофной группы была менее выраженной – при инокуляции штаммами выявлена тенденция к снижению численности микроорганизмов, достоверное – в варианте штамма R1.

Азотфиксирующие микроорганизмы относятся к функционально значимой части ризосферного микробного сообщества, поскольку их численность характеризует потенциальную способность почвенной микробиоты участвовать в обеспечении растений соединениями азота [200], при этом олигонитрофилы также отличаются способностью активно развиваться при низком содержании питательных веществ в субстрате. Полученные результаты свидетельствуют о выраженной зависимости ответа азотфиксирующего комплекса от сочетания «сорт–штамм». В 2019 году наиболее заметная положительная реакция по общей численности азотфиксаторов была выявлена у сорта Ермак (рисунок 8).



Примечание: * – статистическая значимость различий ($p < 0,05$) относительно контроля; P4 – *Ps. fluorescens*, M3 и L1 – *P. nitroguajacolicus*, B5 – *B. wiedmanni*, R1 – *A. tumefaciens*, C – контроль без обработки семян.

Рисунок 8 – Влияние штаммов с высоким ассоциативным потенциалом на численность азотфиксирующих микроорганизмов ризосферы пшеницы озимой (полевой опыт)

Инокуляция штаммами L1 и B5 способствовала увеличению численности и составила 5,3 млн КОЕ/г почвы (превышение контроля в 1,4 раза) и 4,8 млн КОЕ/г почвы (в 1,3 раза выше контроля) соответственно. В варианте с

применением штамма МЗ, напротив, отмечено снижение их численности. На сорте Багира в этот же период преобладала противоположная тенденция. В большинстве вариантов инокуляции количество азотфиксирующих микроорганизмов было ниже контрольного уровня, кроме штамма L1. В ризосфере сорта Лидия только инокуляция штаммом МЗ способствовала росту числа олигонитрофильных микроорганизмов по сравнению с вариантом без инокуляции, в остальных вариантах изменений не наблюдалось. В 2020 году в ризосфере сорта Багира во всех вариантах, кроме R1, наблюдалось увеличение численности данной группы микроорганизмов, максимальный эффект отмечен в варианте применения штамма Р4, показатель достиг 6,9 млн КОЕ/г почвы, что в 3,3 раза превысило контроль. На сорте Лидия применение штамма В5 обеспечило рост численности олигонитрофилов в 1,4 раза относительно контроля.

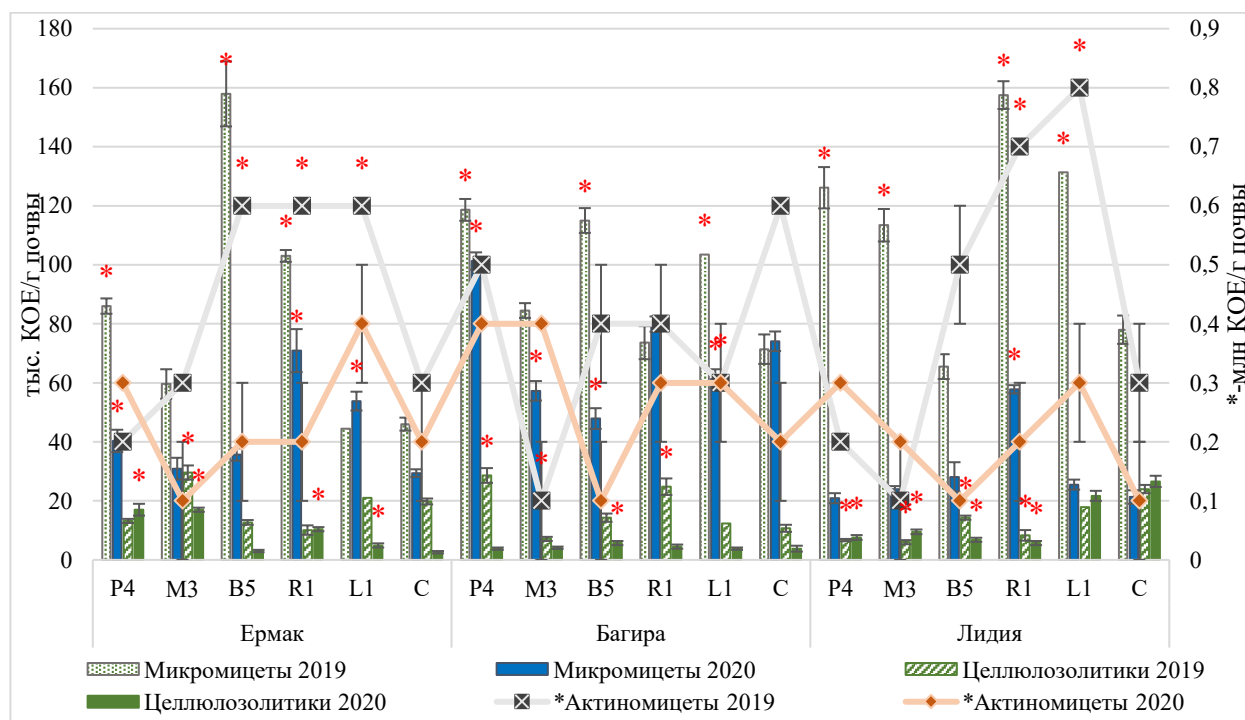
Представители рода *Azotobacter* способны фиксировать азот атмосферы, синтезировать биологически активные вещества, в том числе витамины, поэтому их численность может использоваться в качестве одного из показателей биологической активности почвы [51; 92; 239]. Вместе с тем развитие *Azotobacter* в значительной степени определяется условиями среды. В условиях 2019 года применение большинства исследуемых штаммов, за исключением В5, сопровождалось изменением численности *Azotobacter* в ризосфере сортов Ермак и Багира относительно контроля. Прирост показателя составлял 6,7–16,0 %, что указывает на положительную реакцию данной функциональной группы на инокуляцию при благоприятных условиях увлажнения. Таким образом, эффект инокуляции проявлялся не только через изменение общей численности азотфиксирующих микроорганизмов, но и на уровне бактерий рода *Azotobacter*.

В условиях 2020 года реакция бактерий рода *Azotobacter* была менее однозначной. Наиболее выраженное увеличение численности отмечено у сорта Багира при инокуляции штаммом R1 – показатель возростал в два раза по сравнению с контролем. При этом для того же штамма в 2019 году на данном

сорта наблюдалась противоположная направленность изменения, сопровождавшаяся снижением обилия *Azotobacter* на 67 %. На сорте Лидия в 2020 году положительный эффект отмечен при использовании штамма L1, численность бактерий превышала контрольное значение на 33,3 %.

Таким образом, изменение численности *Azotobacter* характеризовалось выраженной зависимостью от погодных условий, сорта озимой пшеницы и применяемого ассоциативного штамма.

Актиномицеты, микромицеты и целлюлозолитики тесно взаимосвязанная группа микроорганизмов, вовлеченная в процессы, связанные с превращением органических веществ, в том числе тяжелолигидролизных [227]. В 2019 году инокуляция штаммами L1, R1 и B5 способствовала двукратному увеличению численности актиномицетов в ризосфере сорта Ермак (рисунок 9).



Примечание: * – статистическая значимость различий ($p < 0,05$) относительно контроля; P4 – *Ps. fluorescens*, M3 и L1 – *P. nitroguajacolicus*, B5 – *B. wiedmanni*, R1 – *A. tumefaciens*, C – контроль без обработки семян.

Рисунок 9 – Численность микроорганизмов ризосферы озимой пшеницы под влиянием ассоциативных штаммов, млн КОЕ/г почвы (полевой опыт)

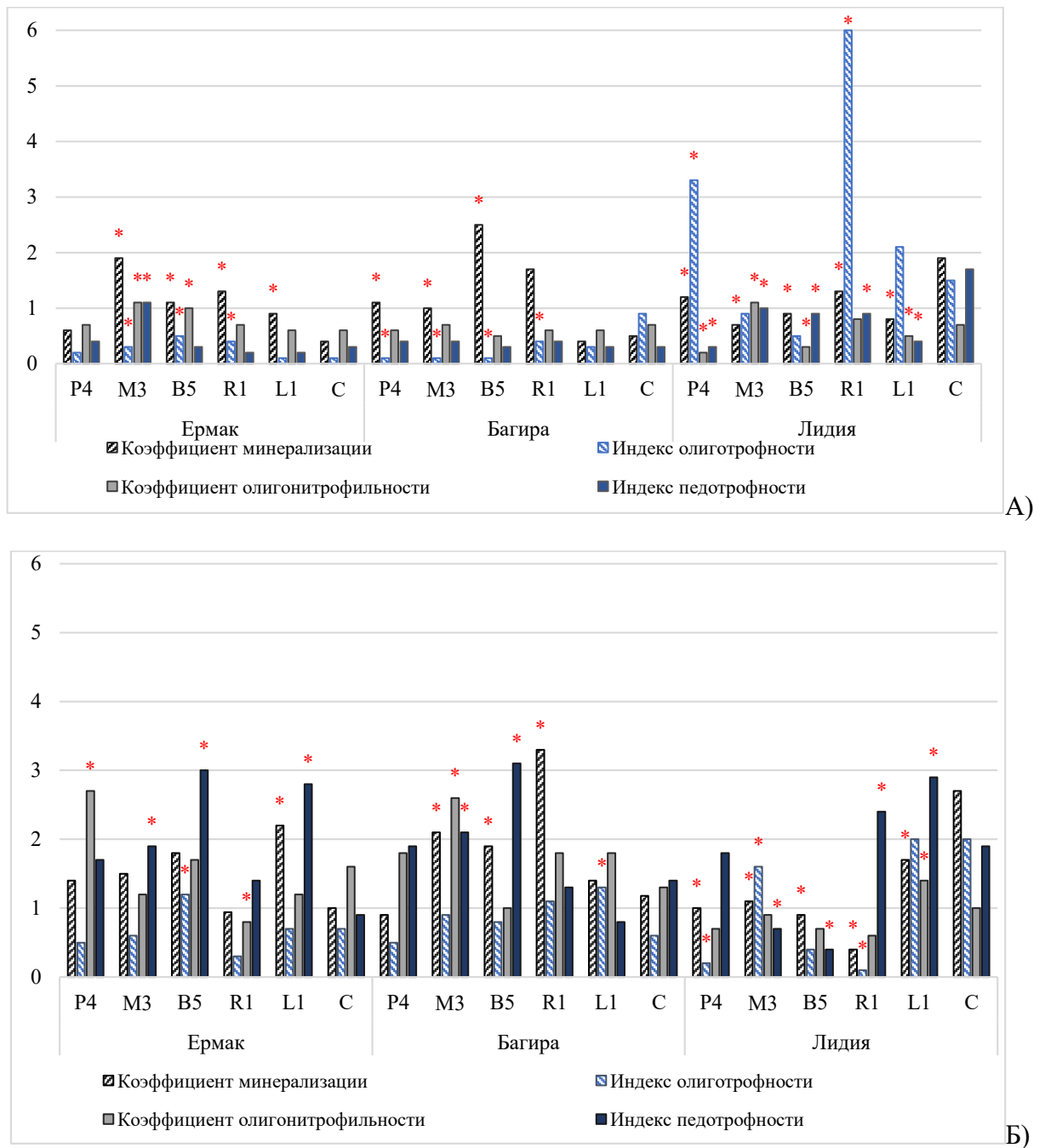
На сорте Лидия аналогичное воздействие (теми же штаммами, за исключением В5) приводило к росту численности актиномицетов в 2,3–2,7 раза относительно контроля. В то же время на сорте Багира во всех вариантах опыта наблюдалась тенденция к снижению численности актиномицетов – в 1,2–6,0 раз, в вариантах со штаммами L1 и M3 снижение оказалось значимым по сравнению с контролем (0,6 млн КОЕ/г почвы).

Анализ количества микроскопических грибов в ризосфере сортов Ермак и Багира в большинстве вариантов выявил увеличение численности относительно контроля. В условиях 2019 года на сорте Лидия численность микромицетов возрастала во всех вариантах (кроме В5) – в 1,4–2,0 раза относительно контроля (78,0 тыс. КОЕ/г почвы).

Целлюлозоразлагающие микроорганизмы демонстрировали иную направленность реакции на сорт растений. На сорте Лидия за два года исследований во всех вариантах опыта зафиксировано снижение численности целлюлозолитических микроорганизмов в ризосфере пшеницы. В условиях 2019 года на сорте Ермак штамм M3 способствовал увеличению численности данной группы, а P4, B5 и R1 вызывали снижение численности в 1,5–2,0 раза (при контрольном уровне 19,8 тыс. КОЕ/г почвы). На сорте Багира рост показателя выявлен при применении штаммов R1 и P4 в 1,3–2,7 раза (контроль 10,7 тыс. КОЕ/г почвы). При применении штамма L1 численность целлюлозолитиков оставалась на уровне контроля у всех трех сортов. В 2020 году установлено стимулирующее влияние на число данной группы только в ризосфере сорта Ермак.

Совокупность микроорганизмов является динамичным компонентом органического вещества почвы, поэтому изменение ее структуры и численности отдельных эколого-трофических групп может отражаться на направленности процессов трансформации органических соединений [42]. Для более полной оценки характера этих изменений были рассчитаны коэффициент минерализации, индекс олиготрофности, коэффициент олигонитрофильности и индекс педотрофности, совокупность полученных данных позволила

охарактеризовать функциональную направленность микробного сообщества ризосферы при использовании ассоциативных штаммов (рисунок 10).



Примечание: * – статистическая значимость различий ($p < 0,05$) относительно контроля; P4 – *Ps. fluorescens*, M3 и L1 – *P. nitroguajacolicus*, B5 – *B. wiedmanni*, R1 – *A. tumefaciens*, C – контроль без обработки семян.

Рисунок 10 – Направленность минерализационных процессов в ризосфере пшеницы озимой под влиянием ассоциативных штаммов

А) 2019 г. Б) 2020 г. (полевой опыт)

В условиях 2019 года применение исследуемых штаммов сопровождалось преимущественно снижением коэффициента минерализации по сравнению с контролем. На сорте Ермак значения показателя находились в широком диапазоне 0,6–1,9. В ризосфере сорта Багира коэффициент был в пределах от 0,4 до 2,5 при контрольном значении 0,5, наиболее выраженное увеличение отмечено при использовании штамма В5. У сорта Лидия показатель составлял 0,7–1,3, тогда как в контроле достигал 1,9. Таким образом, наиболее отчетливое снижение коэффициента минерализации в 2019 году наблюдалось именно у сорта Лидия, где все варианты инокуляции характеризовались значимым изменением показателя относительно контроля.

В засушливых условиях 2020 года характер изменений коэффициента минерализации был иным. На сорте Ермак значения показателя после обработки семян находились в пределах 0,9–2,2 против 1,0 в контроле, максимальное значение зафиксировано при инокуляции штаммом L1.

У сорта Багира диапазон составлял 0,9–3,3 при контрольном значении 1,2, причем наиболее высокий уровень отмечен в варианте со штаммом R1. На сорте Лидия коэффициент минерализации варьировал от 0,4 до 1,7, тогда как в контроле его значение составляло 2,7. Следовательно, на фоне засушливого года реакция показателя сохраняла выраженную зависимость от сочетания сорта и штамма, а у сорта Лидия инокуляция всех исследованных штаммов способствовала снижению коэффициента до более низких значений относительно контроля.

Дополнительную характеристику направленности процессов давал индекс олиготрофности. Повышение этого показателя может свидетельствовать о возрастании доли микроорганизмов, способных существовать при ограниченной доступности питательных веществ, и, соответственно, о замедлении деструкционных процессов. В 2019 году у сорта Ермак при применении трех штаммов М3, В5 и R1 наблюдалось значимое увеличение индекса по сравнению с контролем. В условиях 2020 года направленность показателя у данного сорта изменилась: под воздействием большинства

штаммов индекс снижался, тогда как при использовании В5, напротив, увеличивался в 1,7 раза относительно контроля.

У сорта Багира выявлена выраженная межгодовая изменчивость показателя. В 2019 году применение всех исследованных штаммов сопровождалось значительным снижением индекса олиготрофности до 9,0 раз относительно контроля. В засушливом 2020 году отмечена противоположная тенденция: при использовании большинства штаммов индекс возрастал в 1,3–2,2 раза, исключение составил вариант с Р4. Такая динамика указывает на существенную роль погодных условий в формировании функционального ответа ризосферного микробного сообщества на бактериальную инокуляцию.

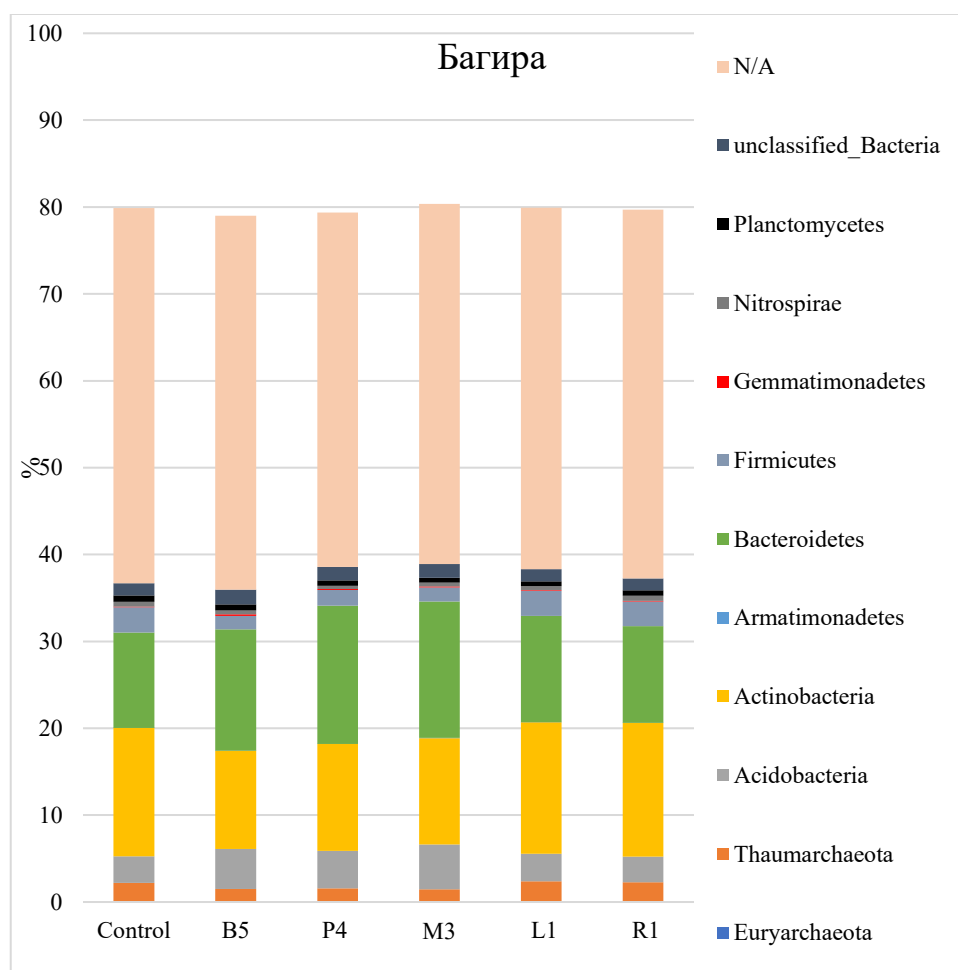
В 2020 году на сорте Багира при использовании М3 и В5 индекс педотрофности возрастал до двух раз. Для сорта Лидия повышение индекса отмечено в вариантах с L1 и R1 соответственно в 1,5 и 1,3 раза, при этом обработка штаммами М3 и В5 сопровождалась его снижением. В противоположность этому, в условиях 2019 года как индекс педотрофности, так и коэффициент минерализации снижались при применении всех исследованных ассоциативных штаммов, причем изменения имели статистическую значимость.

Дефицит доступных питательных элементов в почве и одновременно насыщенность ее азотфиксирующей микробиотой находят отражение в коэффициенте олигонитрофильности. Анализ ризосферы сортов Ермак и Багира показал, что засушливый период 2020 года сопровождался ростом значений этого показателя относительно 2019 года, метеорологические условия которого были более благоприятными для растений.

Таким образом, установлено, что инокуляция микробными биоагентами способствует изменению численности большинства эколого-трофических групп и изменению направленности минерализационных процессов в ризосфере пшеницы озимой в зависимости от сорта и условий агроценоза.

3.4.2 Трансформация таксономической структуры микробиома ризосферы под влиянием инокуляции (метагеномный анализ)

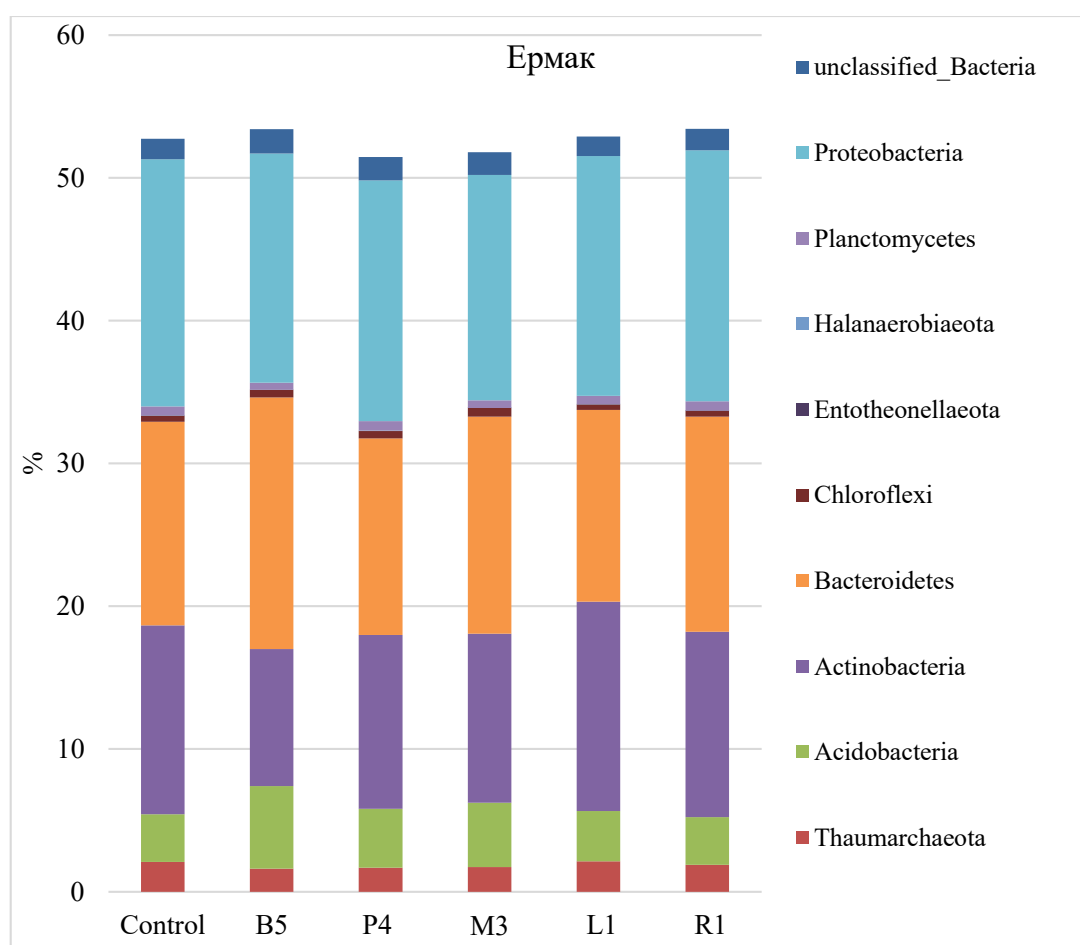
В условиях 2019 года наши исследования [10; 106; 135; 237] в области метагеномного анализа показали, что в ризосфере пшеницы сортов Ермак и Багира определяется наличие представителей 10 и 12 фил, в варианте сорта Лидия 9 фил, из доменов археи и бактерии, имеющие достоверные различия по сравнению с контролем (рисунки 11, 12, 13).



Примечание: P4 – *Ps. fluorescens*, M3 и L1 – *P. nitroguajacolicus*, B5 – *B. wiedmanni*, R1 – *A. tumefaciens*, C – контроль без обработки семян.

Рисунок 11 – Влияние штаммов ассоциативных бактерий на таксономическую структуру (на уровне фил) микробиома ризосферы пшеницы сорта Багира (2019 г.)

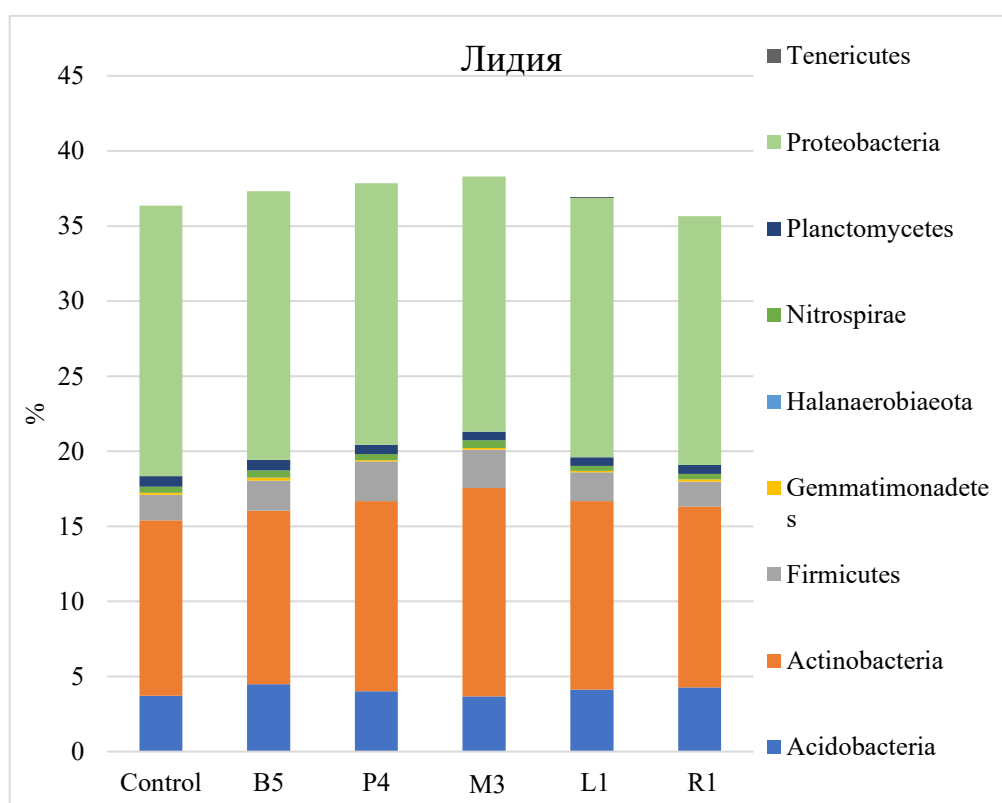
Применение инокуляции ассоциативными штаммами оказали выраженное воздействие на таксономическую структуру прокариотного сообщества ризосферы пшеницы на черноземе южной степной зоны. Изменения затронули как доминирующие, так и минорные компоненты микробиома на уровне фил и семейств. На уровне доменов значительную часть сообщества от 40,3 до 43,3 % формировали представители, не поддающиеся таксономической атрибуции, конкретные значения определялись сортом пшеницы и применением инокуляции ассоциативным штаммом.



Примечание: P4 – *Ps. fluorescens*, M3 и L1 – *P. nitroguajacolicus*, B5 – *B. wiedmanni*, R1 – *A. tumefaciens*, С – контроль без обработки семян.

Рисунок 12 – Влияние штаммов ассоциативных бактерий на таксономическую структуру (на уровне фил) микробиома ризосферы пшеницы сорта Ермак (2019 г.)

Среди прокариот доминировали семь фил, каждая из которых превышала порог 1 % по относительному обилию: *Thaumarchaeota*, *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia*. При этом неатрибутируемые филотипы, относящиеся к домену *Bacteria*, составляли минимальную долю — всего 1,3–1,7 %.



Примечание: P4 – *Ps. fluorescens*, M3 и L1 – *P. nitroguajacolicus*, B5 – *B. wiedmanni*, R1 – *A. tumefaciens*, С – контроль без обработки семян.

Рисунок 13 – Влияние штаммов ассоциативных бактерий на таксономическую структуру (на уровне фил) микробиома ризосферы пшеницы сорта Лидия (2019 г.)

В круговороте азота в почве важная роль принадлежит археям *Thaumarchaeota*, микроорганизмам, которые, с трудом поддаются лабораторному культивированию, широко встречаются в почвенных экосистемах, выступая ключевыми окислителями аммония [95; 190]. Также известно, что численность этого филума положительно коррелирует с содержанием в почве органического углерода и азота [163]. В ризосфере сорта Ермак их доля находилась в пределах 1,7–2,1 %, у сорта Багира – 1,5–2,4 %. В

вариантах сортов Ермак и Багира штаммы В5, Р4 и М3 оказывали влияние на долю *Thaumarchaeota*, способствуя ее изменению.

На сорте Багира максимальное увеличение доли *Acidobacteria* выявлено на уровне 70,5% к контролю. Аналогичная тенденция прослежена на сорте Ермак. В ризосфере сорта Лидия все исследуемые штаммы (кроме М3) стимулировали рост доли *Acidobacteria*, наибольшее значение выявлено при применении штамма В5, 4,5 % при контрольном уровне 3,7 %.

В ризосфере сорта Багира отмечено снижение фило *Euryarchaeota*. В вариантах В5 и М3 представители фило не обнаружены. В ризосфере двух других сортов данная фила не выделена как значимая.

Представители фило *Actinobacteria* отличаются высокой биоремедиационной активностью [221] и устойчивостью к дефициту влаги при повышенных температурах [70], что, по-видимому, объясняет их значительную долю в исследуемых образцах. В ризосфере сорта Багира наибольшее влияние выявлено в варианте штамма В5 – снижение на 23,6%, в вариантах с L1 и R1 установлено не значимое уменьшение доли. На сорте Ермак также выявлено снижение при инокуляции В5, но штамм L1 стимулировал рост доли *Actinobacteria*. На сорте Лидия инокуляция увеличивала долю данной фило кроме штамма В5.

Литературные данные указывают на преобладание представителей фило *Bacteroidetes* в целинных почвах [128]. В ризосфере сорта Багира доля *Bacteroidetes* возрастала во всех вариантах применения штаммов, максимально в варианте Р4 на 45,1% относительно контроля (11,0 %). У сорта Ермак значение увеличивалось под действием штаммов до 17,6 %. Варианты со штаммами Р4 и L1 сопровождалось статистически незначимым снижением показателя.

В ризосфере сорта Лидия доля *Firmicutes* увеличивалась во всех вариантах инокуляции кроме штамма R1. Наибольшее увеличение выявлено в варианте Р4 и составило 52,9% к контролю. На сорте Багира, наоборот происходило снижение доли представленности данной фило. Бактерии фило

Firmicutes выполняют ключевую функцию в разложении сложных органических веществ, вносят вклад в восстановление экосистем через биоремедиацию [189; 235].

Являясь самой крупной бактериальной группой в черноземе, *Proteobacteria* в ответ на инокуляцию демонстрировала тенденцию к сокращению доли. На сорте Ермак наиболее выраженное снижение к контролю на 8,7 % отмечено в варианте со штаммом МЗ. У сорта Лидия аналогичная реакция установлена при применении штамма R1 и составила 7,8%.

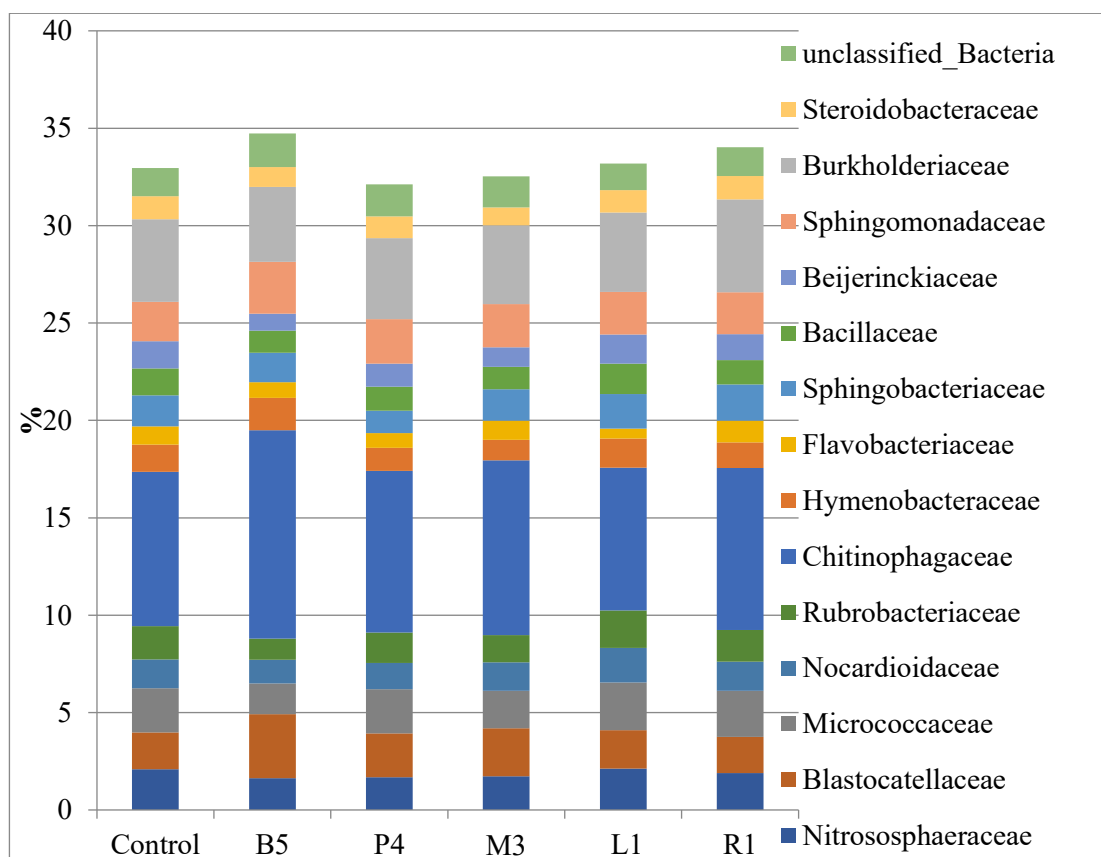
Фила *Verrucomicrobia* служит индикатором химических характеристик почвы, напрямую связанных с уровнем плодородия [242]. Под действием инокуляции прослежена тенденция к увеличению обилия данной филы, у сорта Багира в большинстве вариантов, у сорта Ермак – при применении штамма МЗ на 6,5%.

На уровне семейств в 2019 году под влиянием ассоциативных штаммов также были выявлены определенные структурные сдвиги в прокариотном биоме ризосферы (рисунки 14–16).

В прокариотном биоме ризосферы пшеницы сорта Ермак на черноземе южном выявлено 126 семейств с минорной долей, каждое из которых не превышает 1 %, общая сумма составила от 19,47 до 21,78 % по разным вариантам опыта, что указывает на то, что несмотря на низкую индивидуальную представленность, минорные таксоны в совокупности формируют существенную часть микробного сообщества.

В условиях 2019 года показано влияние штаммов на представительство 17 доминирующих семейств в ризосфере сортов Ермак и Лидия и 22 – у сорта Багира [135].

Во всех вариантах, кроме штамма L1 на сорте Ермак, в вариантах применения МЗ и В5 на сорте Лидия и R1 в ризосфере сорта Багира установлено увеличение доли семейства *Chitinophagaceae* – в 1,0–1,5 раза, являющегося индикатором повышения питательных веществ в почве.



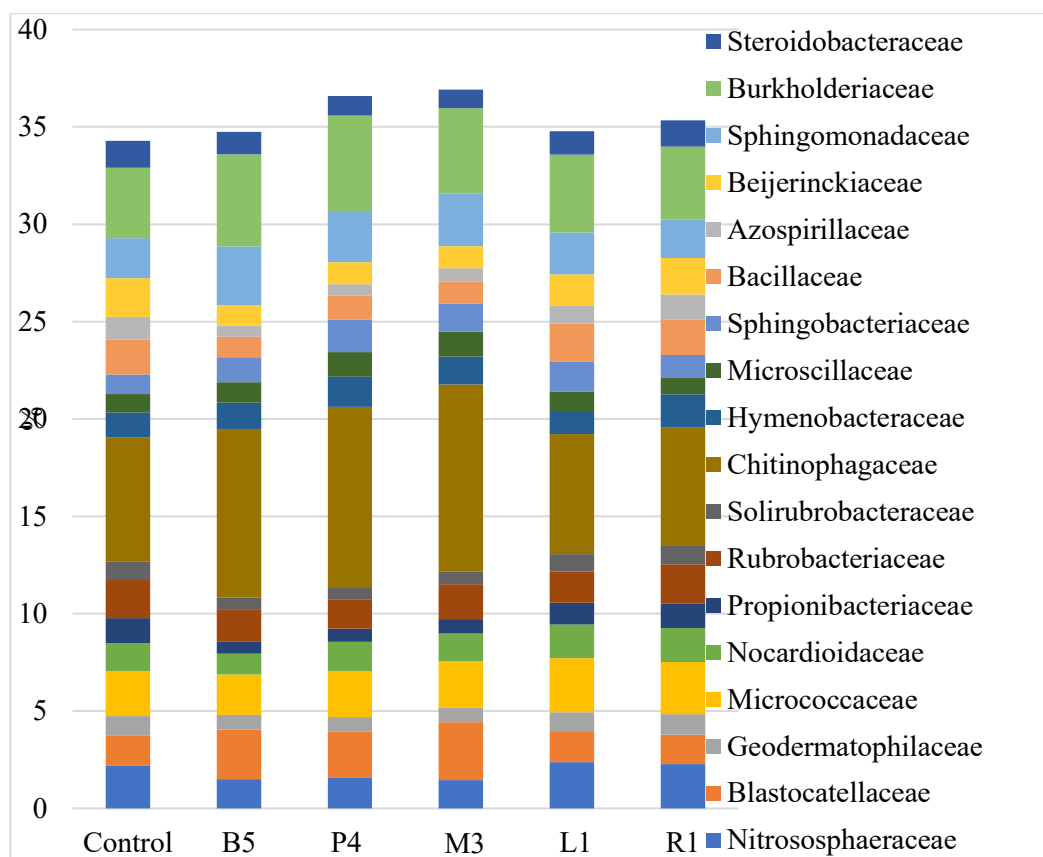
Примечание: P4 – *Ps. fluorescens*, M3 и L1 – *P. nitroguajacolicus*, B5 – *B. wiedmanni*, R1 – *A. tumefaciens*, С – контроль без обработки семян.

Рисунок 14 – Влияние штаммов ассоциативных бактерий на таксономическую структуру (на уровне семейств) микробиома ризосферы пшеницы сорта Ермак (2019 г.)

Увеличение доли семейства *Sphingomonadaceae*, отзывчивого на условия возделывания почвы [70], в 1,1–1,4 раза установлено под влияние всех штаммов на сорте Ермак за исключением, штамма R1 на сорте Багира.

Инокуляция всеми штаммами семян сорта Багира способствовало увеличению доли семейства *Sphingobacteriaceae*, тогда как на сортах Лидия и Ермак избирательно влияла на представленность семейства: их доля увеличивалась в 1,1 и 1,2 раза под влиянием L1 и R1, в сравнении с контролем.

Представители семейств *Micrococcaceae* и *Geodermatophilaceae* могут служить показателями почвенных условий при антропогенном воздействии, доля их возрастает при сельскохозяйственном возделывании [70]. Во всех вариантах на сорте Лидия инокуляция способствовала снижению доли семейства *Micrococcaceae*.

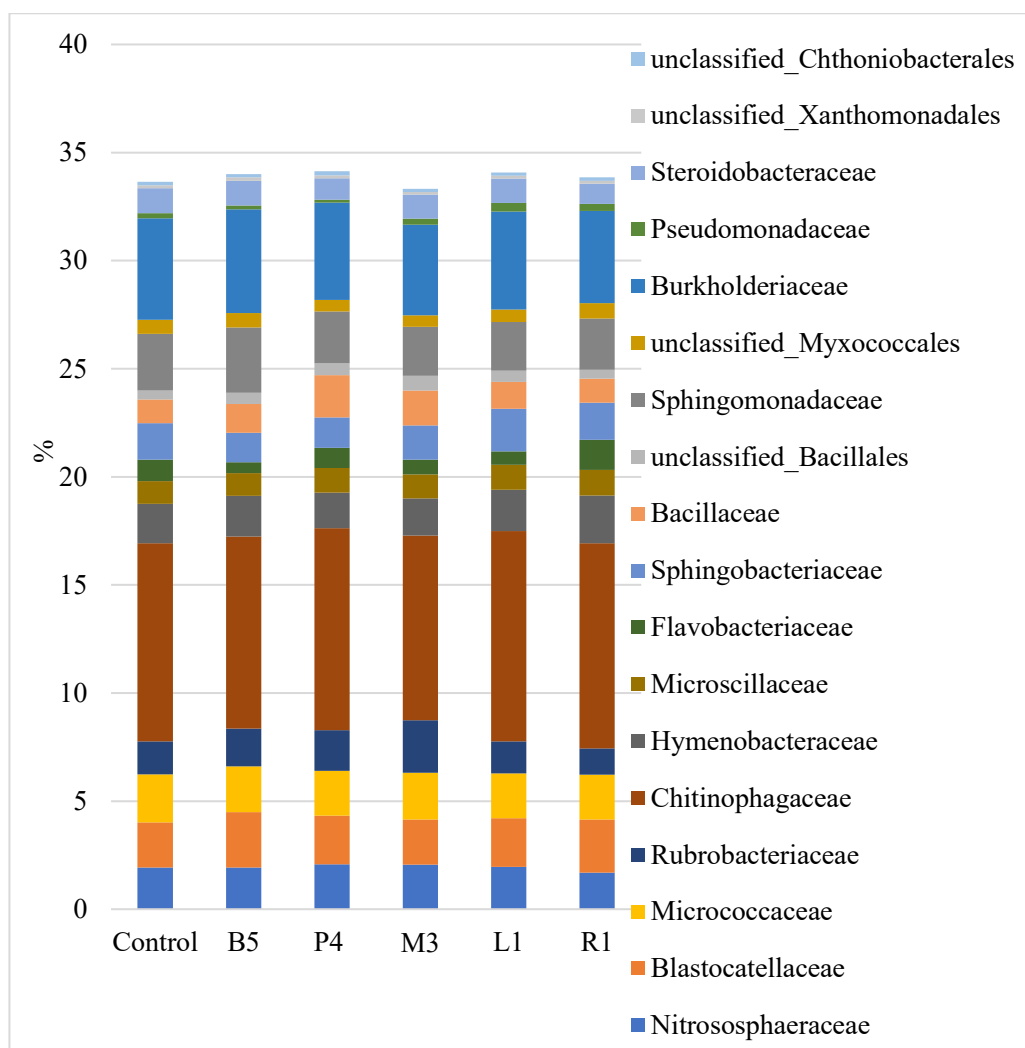


Примечание: P4 – *Ps. fluorescens*, M3 и L1 – *P. nitroguajacolicus*, B5 – *B. wiedmanni*, R1 – *A. tumefaciens*, C – контроль без обработки семян.

Рисунок 15 – Влияние штаммов ассоциативных бактерий на таксономическую структуру (на уровне семейств) микробиома ризосферы пшеницы сорта Багира (2019 г.)

Результаты исследований чернозема южного ризосферы пшеницы сортов Ермак и Багира показали избирательность влияния штаммов на представительство семейств *Micrococcaceae* и *Geodermatophilaceae*.

Представители семейства *Rubrobacteraceae* являются показателем экстремальных почвенных условий. Среди мажорных представителей таксономической группы этот таксон выявлен в ризосфере сортов Ермак и Багира, доля которого снижалась под влиянием штаммов в 1,1–1,6 раза по сравнению с контролем. Исключение составил штамм L1, обеспечивший незначимое ее увеличение.



Примечание: P4 – *Ps. fluorescens*, M3 и L1 – *P. nitroguajacolicus*, B5 – *B. wiedmanni*, R1 – *A. tumefaciens*, С – контроль без обработки семян.

Рисунок 16 – Влияние штаммов ассоциативных бактерий на таксономическую структуру (на уровне семейств) микробиома ризосферы пшеницы сорта Лидия (2019 г.)

Анализ биоразнообразия в ризосфере пшеницы сорта Ермак показал его изменения при бактерилизации различными ассоциативными штаммами (таблица 8). Бета-разнообразие изменялось под влиянием штамма P4, о чем свидетельствует снижение в 1,3 раза индекса Уиттакера при его показателях 0,62 в контроле. При применении других штаммов значимых изменений данного показателя не выявлено. Максимальное количество таксонов также установлено в варианте P4 и составило 124,3. Наибольший индекс Шеннона выявлен в варианте применения штамма L1. Существенных изменений по анализу биоразнообразия не выявлено.

Таблица 8 – Альфа- и бета-разнообразие семейств прокариот в ризосфере пшеницы сорта Ермак при бактеризации различными штаммами (2019 г.)

Индексы	C (контроль)	B5 <i>B. wiedmanni</i>	P4 <i>Ps. fluorescens</i>	M3 <i>P. nitroguajacoli- cus</i>	L1 <i>P. nitroguajacoli- cus</i>	R1 <i>A. tumefaciens</i>
Количество таксонов	122,0±2,2	116,8±4,8	124,3±3,7	121,0±0,5	121,8±1,2	120,0±1,8
И _{Симпсона}	0,81±0,01	0,81±0,00	0,80±0,00	0,80±0,00	0,81±0,01	0,81±0,01
И _{Шеннона}	2,90±0,04	2,82±0,02	2,84±0,01	2,83±0,02	2,93±0,03	2,90±0,04
Выравненность	0,15±0,01	0,14±0,00	0,14±0,00	0,14±0,00	0,15±0,01	0,15±0,01
И _{Маргалефа}	28,4±0,6	27,0±1,1	28,9±0,9	28,1±0,1	28,4±0,3	27,9±0,4
И _{Бергера-Паркера}	0,42±0,01	0,41±0,01	0,43±0,01	0,43±0,01	0,41±0,01	0,41±0,01
И _{Уиттакера}	0,62	0,69	0,47	0,62	0,63	0,63

Анализа главных координат (PCoA) продемонстрировал выраженное разделение прокаритных сообществ (рисунки 17, 18, 19) по таксономическому составу семейств в ризосфере сортов Ермак и Багира в условиях 2019 года.

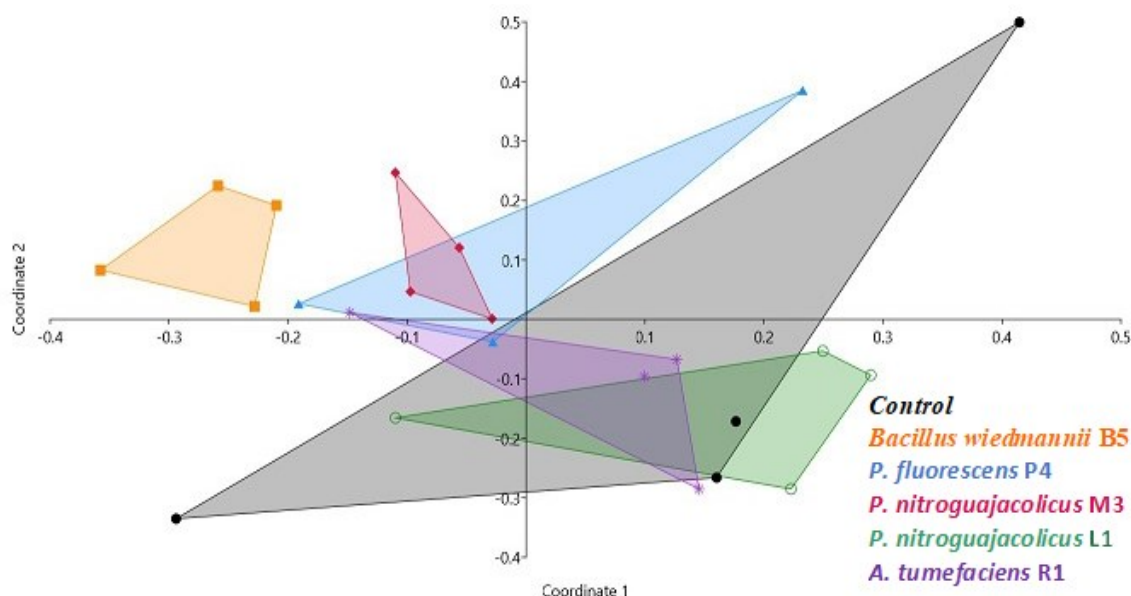


Рисунок 17 – Анализ главных координат семейств прокариот, представленных в ризосфере пшеницы сорта Ермак (2019 г.)

Полученный результат указывает на то, что инокуляция разными штаммами ассоциативных бактерий формировала отчетливо различающиеся структуры микробных сообществ, занимающие разные области многомерного

пространства и качественно отличались по составу доминирующих и минорных семейств.

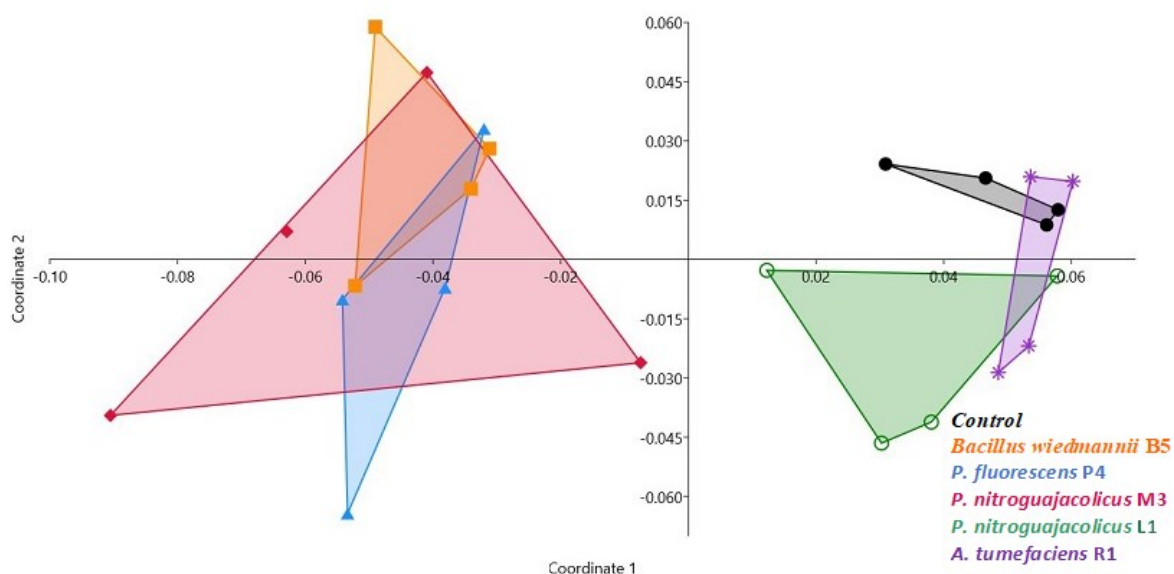


Рисунок 18 – Анализ главных координат семейств прокариот, представленных в ризосфере пшеницы сорта Багира (2019 г.)

На основании полученных данных штаммы P4 и M3 в ризосфере сорта Ермак характеризовались близким составом микробного сообщества.

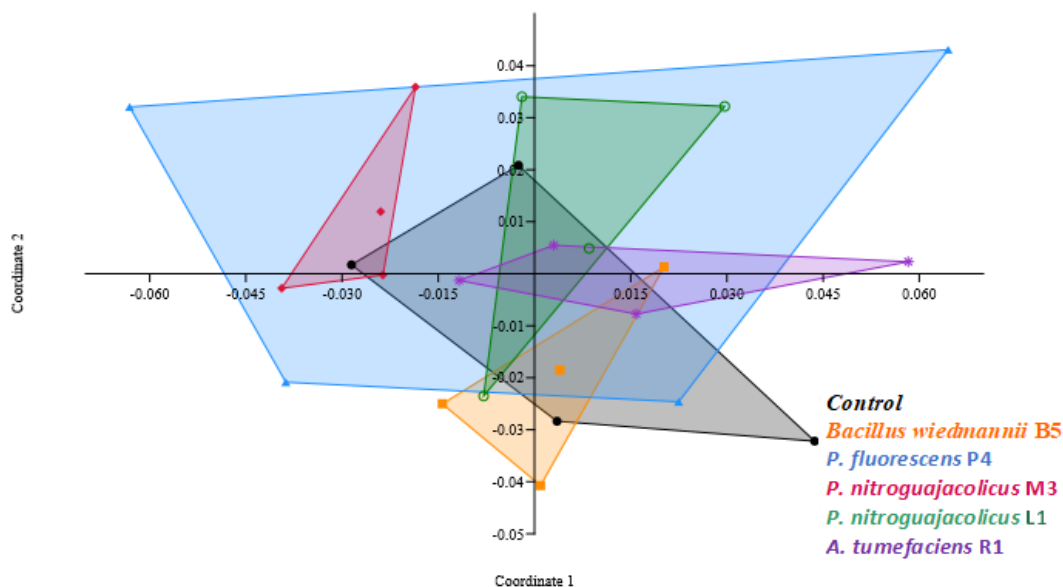
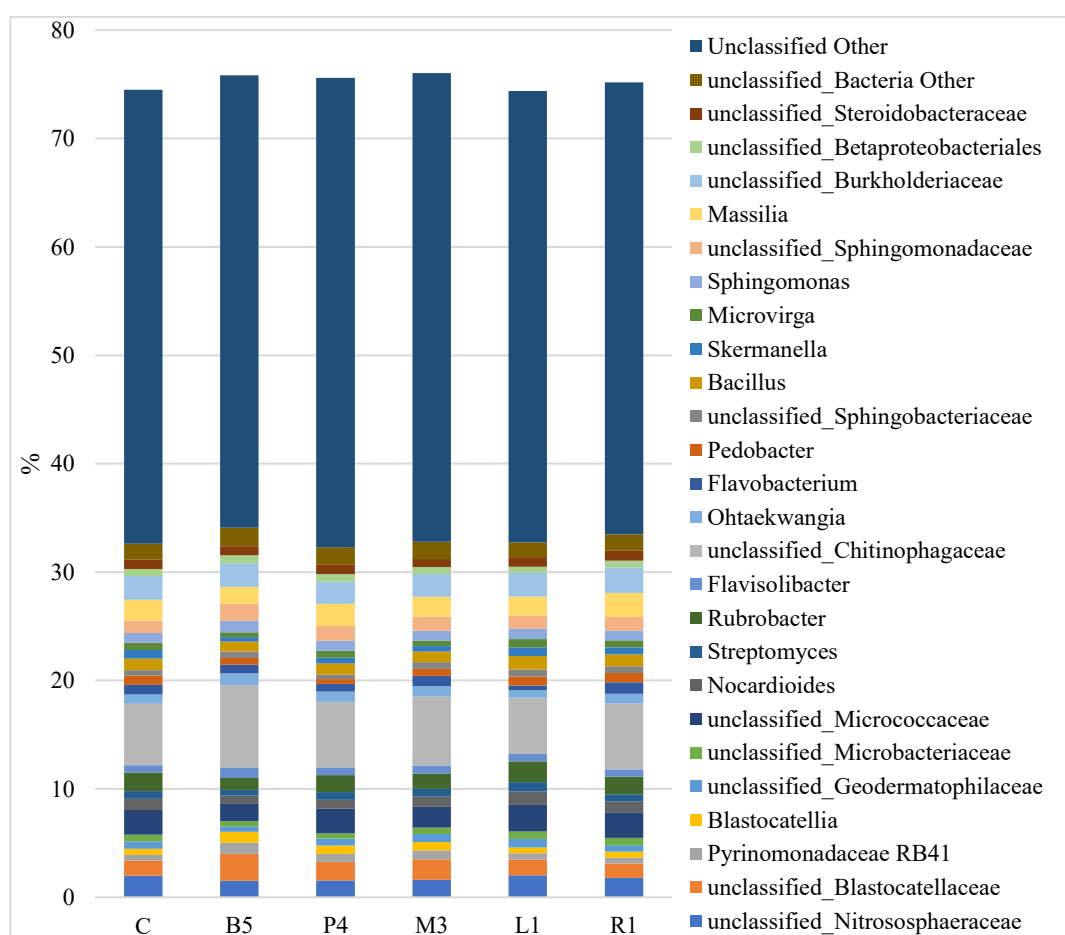


Рисунок 19 – Анализ главных координат семейств прокариот, представленных в ризосфере пшеницы сорта Лидия (2019 г.)

Наибольшая степень обособленности отмечена для варианта со штаммом B5 при инокуляции семян сорта Ермак, тогда как штаммы L1 и R1 по своему микробному профилю практически соответствовали контрольному варианту. У сорта Лидия в условиях 2019 года таксономический профиль микробиома после обработки семян штаммами оставался близким к контрольному, что подтверждается отсутствием значимой дифференциации при анализе главных компонент. Следовательно, применяемая обработка оказала ограниченное влияние на формирование микробного сообщества данного сорта.

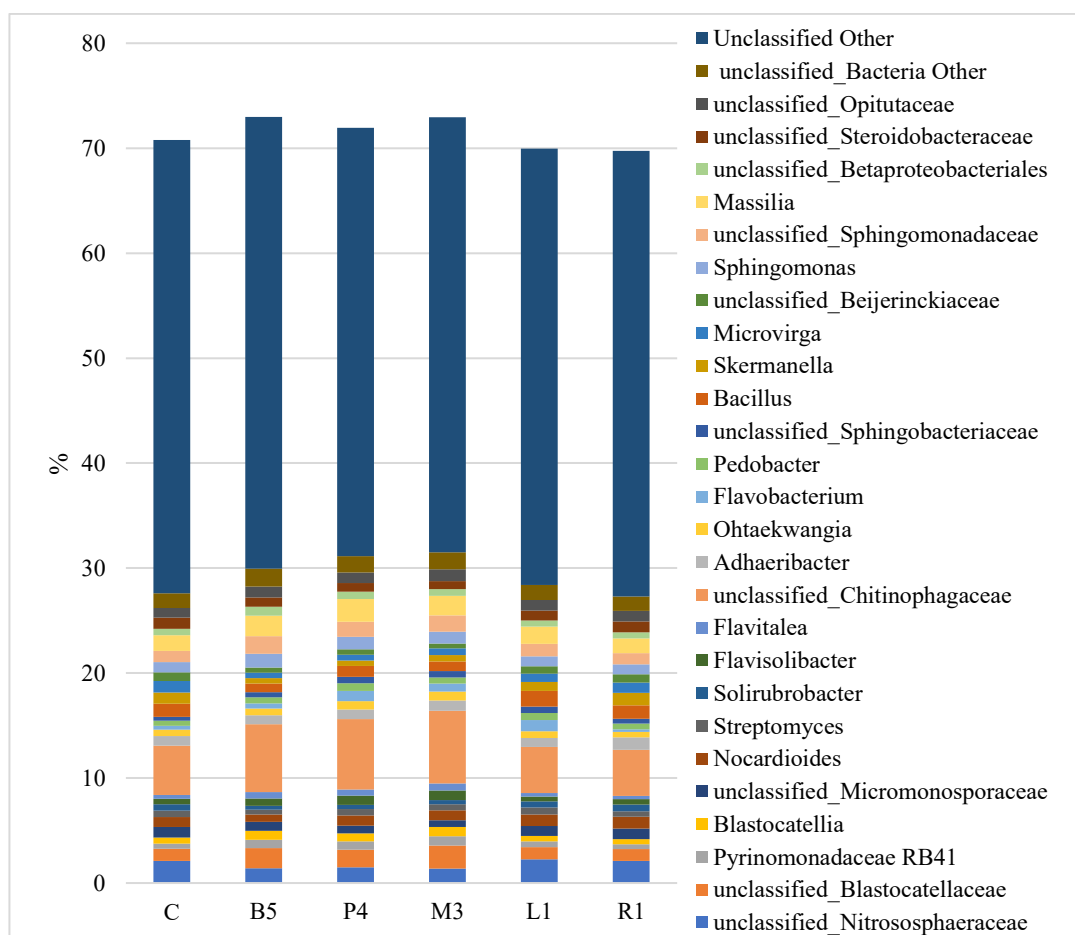
Применение штаммов с высоким ассоциативным потенциалом вызывало изменения таксономической структуры прокариотного сообщества и на уровне родов по сравнению с вариантом без обработки [94] (рисунки 20–22).



Примечание: P4 – *Ps. fluorescens*, M3 и L1 – *P. nitroguajacolicus*, B5 – *B. wiedmanni*, R1 – *A. tumefaciens*, C – контроль без обработки семян.

Рисунок 20 – Влияние штаммов ассоциативных бактерий на таксономическую структуру (на уровне родов) микробиома ризосферы пшеницы сорта Ермак (2019 г.)

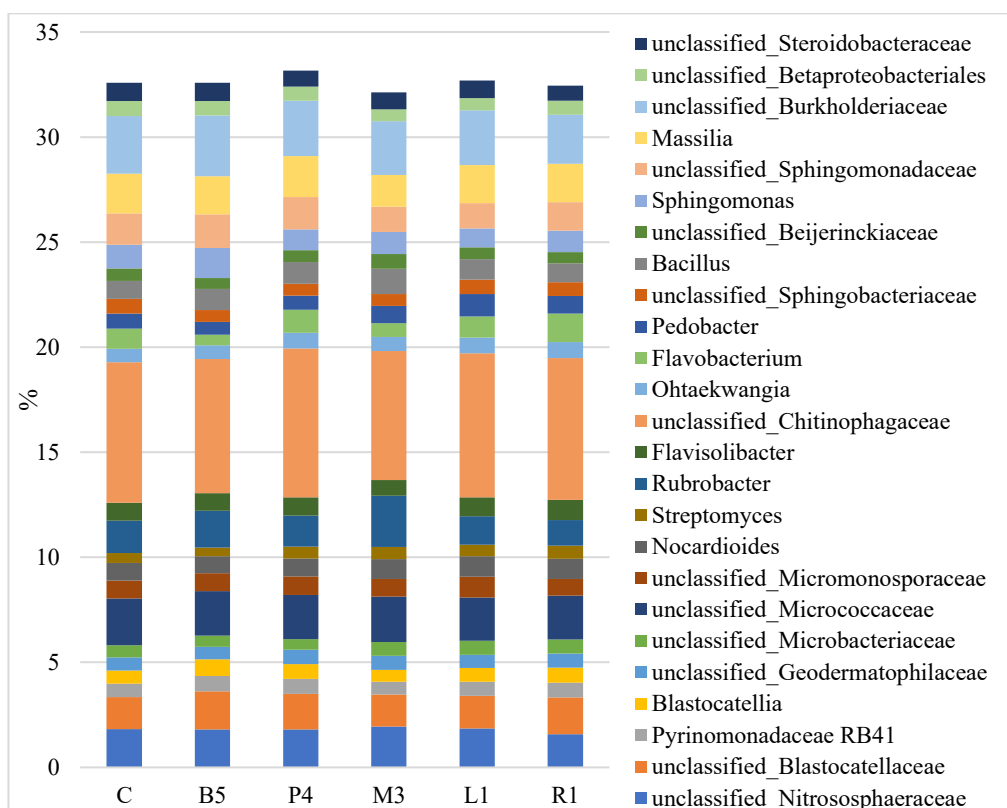
Штаммы М3, В5, Р4 оказывали стимулирующее действие в ризосфере Багира и Ермак на представленность рода семейства *Blastocatellaceae*, рода *Sphingomonas* и unclassified *Chitinophagaceae*. Максимальное влияние установлено у рода *Blastocatellaceae* в результате применения штамма М3, доля которого увеличилась с 1,2 % до 2,2 % (83,3 % в сравнении с вариантом без обработки). Доля рода семейства *Chitinophagaceae* увеличивалась на сорте Ермак во всех вариантах, наибольшее возрастание (33,3 %) от 5,7 % в контроле до 7,6 % выявлено при применении штамма В5. Представители семейства *Chitinophagaceae* известны способностью к разложению сложных органических веществ и стимулирующим рост действием [149; 187].



Примечание: Р4 – *Ps. fluorescens*, М3 и L1 – *P. nitroguajacolicus*, В5 – *B. wiedmanni*, R1 – *A. tumefaciens*, С – контроль без обработки семян.

Рисунок 21 – Влияние штаммов ассоциативных бактерий на таксономическую структуру (на уровне родов) микробиома ризосферы пшеницы сорта Багира (2019 г.)

Сорт Лидия продемонстрировал наименьшую восприимчивость к инокуляции с точки зрения перестройки родовой структуры ризосферного сообщества, в большинстве вариантов состав микробных родов слабо отличался от контрольного. Единственным заметным исключением стал род *Rubrobacter*: в варианте с инокуляцией штаммом МЗ его представленность увеличилась на 60,0 % относительно контроля. Актинобактерии рода *Rubrobacter* известны своей способностью выживать в экстремальных условиях, они характеризуются высокой радиационной стойкостью, галотолерантностью, термотолерантностью и термофильностью, а также способны синтезировать значительные количества глутатиона [231].



Примечание: P4 – *Ps. fluorescens*, M3 и L1 – *P. nitroguajacolicus*, B5 – *B. wiedmanni*, R1 – *A. tumefaciens*, C – контроль без обработки семян.

Рисунок 22 – Влияние штаммов ассоциативных бактерий на таксономическую структуру (на уровне родов) микробиома ризосферы пшеницы сорта Лидия (2019 г.)

Род *Flavisolibacter* обладает высокой ферментативной активностью [166], некоторые исследования показали его потенциал в биоремедиации почв [134]. В ризосфере сорта Ермак увеличивалась доля данного рода и составляла от 1,2% до 1,5% при 0,9% в контроле. На сорте Багира возрастание выявлено в варианте М3 от 1,0% в контроле до 1,3% в варианте.

Известно, что представители семейства *Burkholderiaceae* характеризуются симбиотическими свойствами [209], увеличение их доли может отражать усиление взаимовыгодных взаимодействий в системе «растение–микробиом». В ризосфере сорта Багира во всех вариантах инокуляции отмечался рост представленности рода unclassified *Burkholderiaceae*, наибольшее увеличение составило 35,0 % относительно контроля. На сортах Ермак и Лидия тенденция к росту этого таксона прослеживалась в отдельных вариантах: на сорте Ермак – при инокуляции штаммом R1, на сорте Лидия – B5

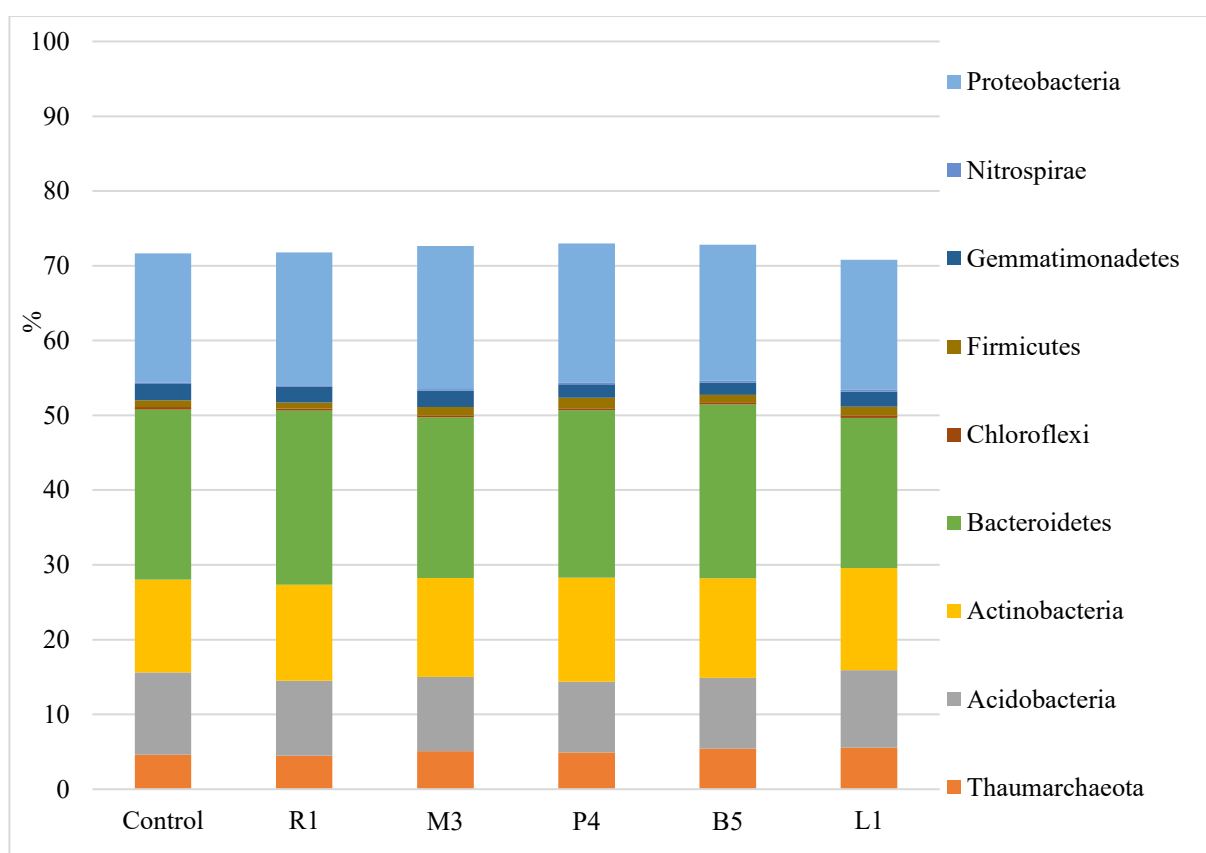
Таким образом, инокуляция семян пшеницы ассоциативными штаммами влияла на таксономическую структуру микробиома ризосферы в условиях чернозема южного степной зоны Крыма в условиях 2019 года.

В условиях 2020 года, метагеномный анализ таксономической структуры ризосферного микробиома озимой пшеницы трех сортов выявил присутствие 17–20 фил из доменов бактерий и архей. До 22,8% составляли неатрибутируемые таксоны от всего сообщества (рисунки 23–25). В состав доминирующих фил (с долей выше 1 %) вошли девять групп: *Thaumarchaeota*, *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Gemmatimonadetes*, *Firmicutes*, *Planctomycetes*, *Proteobacteria* и *Verrucomicrobia*.

Доля архей филы *Thaumarchaeota* в ризосфере озимой пшеницы варьировала по сортам. На сорте Багира влияние бактериальной инокуляции наиболее отчетливо проявлялось в перераспределении долей отдельных доминирующих фил какой и была *Thaumarchaeota*. У сорта Багира она находилась в пределах 4,5–5,6 % (рисунок 23), увеличение доли данной филы выявлено во всех вариантах кроме R1. У сорта Ермак – 4,2–5,8 % (рисунок 24) и установлено снижение во всех вариантах применения инокуляции. На сорте

Лидия диапазон был шире и составлял от 4,8 % до 7,0 %, инокуляция ассоциативными штаммами существенно увеличивала долю фило *Thaumarchaeota*, максимально на 45,8 % в результате применения штамма P4.

Доля бактерий фило *Acidobacteria* под влиянием инокуляции также реагировала дифференцированно. В отношении данной фило наблюдалась закономерность снижения относительно варианта без обработки семян в ризосфере сорта Багира. На сортах Ермак и Лидия выявлено ее увеличение в диапазоне 9,9–12,6 %.



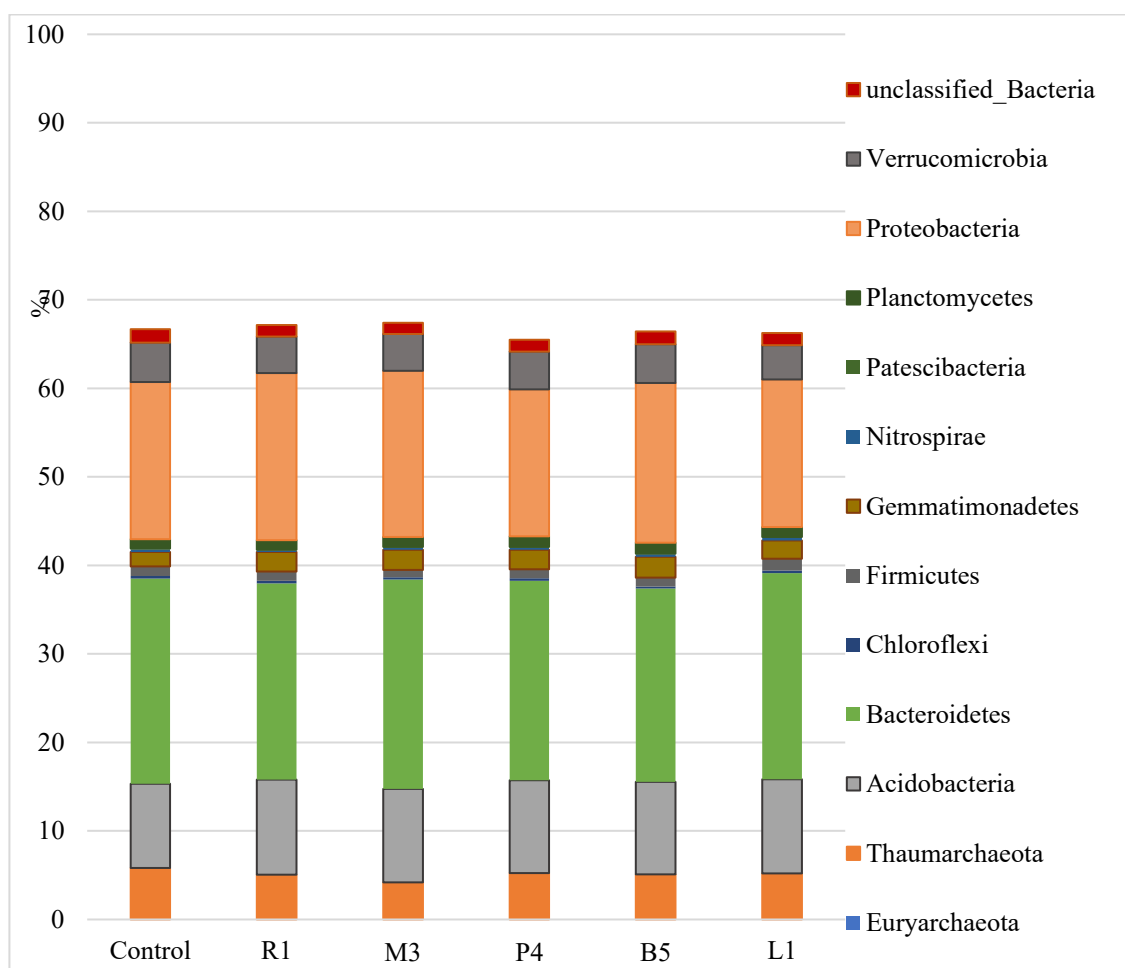
Примечание: P4 – *Ps. fluorescens*, M3 и L1 – *P. nitroguajacolicus*, B5 – *B. wiedmanni*, R1 – *A. tumefaciens*, С – контроль без обработки семян.

Рисунок 23 – Влияние штаммов ассоциативных бактерий на таксономическую структуру (на уровне фило) микробиома ризосферы пшеницы озимой сорта Багира (2020 г.)

Представители фило *Actinobacteria* хорошо приспособлены к сухим и теплым условиям. Филадель играет значимую роль в растительно-микробных ассоциациях как симбионт. Также отдельные ее представители влияют на

мобилизацию кальция и фосфора в почве [116]. Применение штаммов стимулировало рост доли этой фило: на сортах Ермак и Багира (за исключением штамма М3 на Ермаке), наибольшее увеличение к контролю составило 16,1 %. В ризосфере сорта Багира наибольшая доля фило *Actinobacteria* была отмечена в варианте со штаммом R1 и составила 15,4 %, тогда как в контроле находилась на уровне 14,8 %.

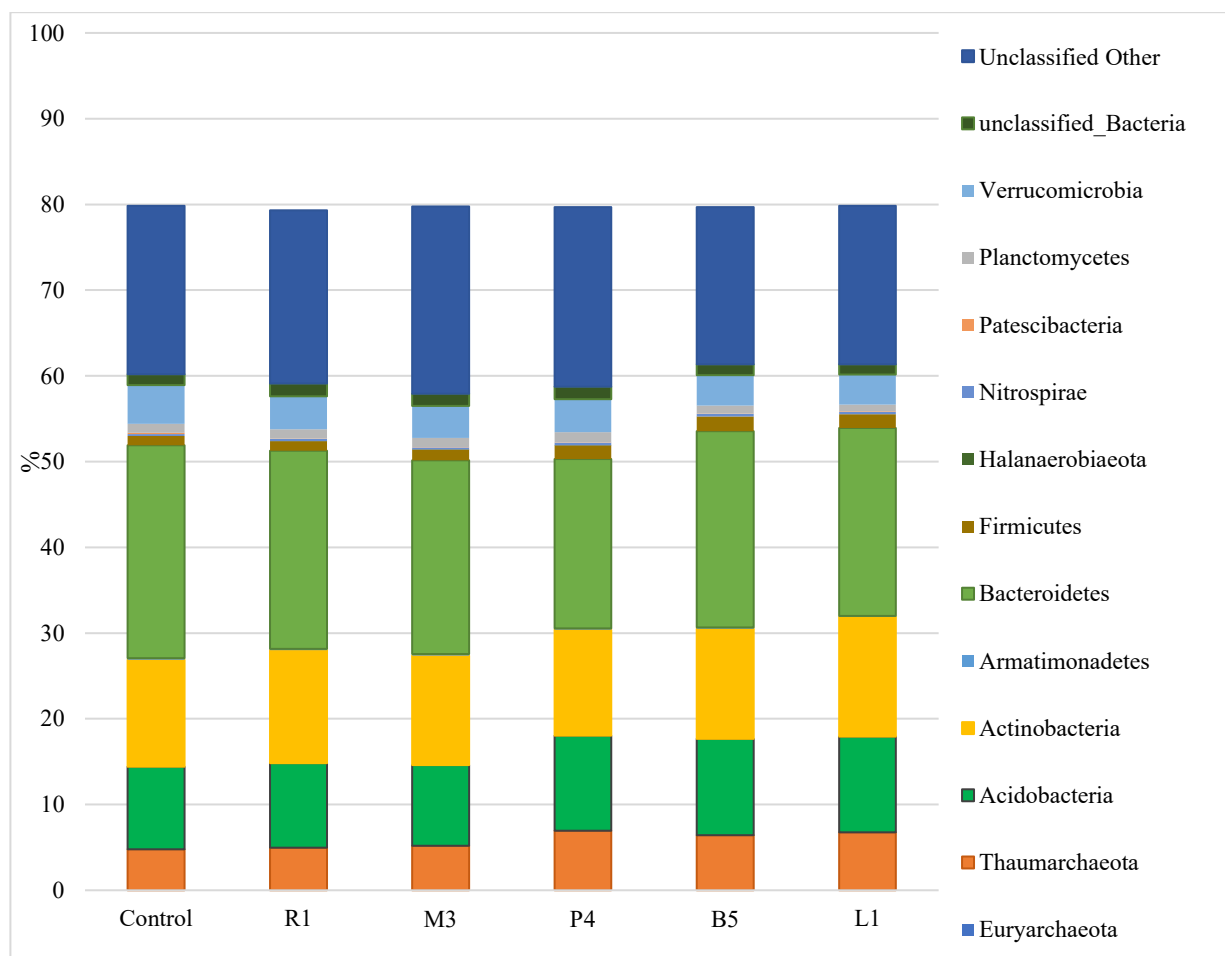
На сорте Лидия вариабельность фило *Actinobacteria* была умеренной, максимум (14,0 %) зафиксирован в варианте штамма L1, минимум (12,3 %) – P4, что практически соответствовало контрольному значению (12,5 %).



Примечание: P4 – *Ps. fluorescens*, M3 и L1 – *P. nitroguajacolicus*, B5 – *B. wiedmanni*, R1 – *A. tumefaciens*, C – контроль без обработки семян.

Рисунок 24 – Влияние штаммов ассоциативных бактерий на таксономическую структуру (на уровне фил) микробиома ризосферы пшеницы озимой сорта Ермак (2020 г.)

Фила *Bacteroidetes* характеризовалась незначительным ростом доли на сортах Багира и Ермак. У сорта Багира в контрольном варианте ее доля составляла 11,0 %, тогда как при использовании штамма Р4 она возросла до 15,9 %. На сорте Ермак значения показателя после обработки семян находились в пределах 0,9–2,2% против 1,0% в контроле, максимальное значение зафиксировано при инокуляции штаммом L1.



Примечание: P4 – *Ps. fluorescens*, M3 и L1 – *P. nitroguajacolicus*, B5 – *B. wiedmanni*, R1 – *A. tumefaciens*, C – контроль без обработки семян.

Рисунок 25 – Влияние штаммов ассоциативных бактерий на таксономическую структуру (на уровне фил) микробиома ризосферы пшеницы озимой сорта Лидия (2020 г.)

Представители *Firmicutes* участвуют в разложении сложных органических веществ [236], и их доля в микробиоме оказалась чувствительной к инокуляции. У сорта Ермак под влиянием штамма L1 выявлено увеличение

доли фило на 20,4%, в остальных вариантах значимых изменений не определено. В ризосфере сорта Багира наибольшее возрастание выявлено при применении штамма P4, доля *Firmicutes* составила 1,4% при 0,9% в контроле.

Доля фило *Gemmatimonadetes* зависела от сорта пшеницы и реагировала преимущественно повышением доли в ризосфере сортов Ермак и Лидия, тогда как при применении штаммов B5 и L1 такой тенденции не наблюдалось. У сорта Багира, напротив, отмечалось снижение представленности данной фило.

Фила *Planctomycetes* также демонстрировала сортспецифичную реакцию на инокуляцию. Установлено, что доля данной фило, представители которой известны способностью участвовать в ключевых процессах круговорота биогенных элементов [179], на сорте Ермак при инокуляции увеличивалась на уровне тенденции, тогда как у Багиры и Лидии наблюдалось снижение доли *Planctomycetes*. С учетом способности представителей данной фило участвовать в процессах азотного обмена, выявленные изменения представляют интерес при оценке общей функциональной перестройки ризосферного микробиома в условиях засухи.

Наиболее многочисленной бактериальной группой оставалась *Proteobacteria*, однако характер ее изменения также зависел от сорта и штамма. В ризосфере Ермак и Багира в большинстве вариантов отмечалась тенденция к увеличению ее представленности. У Багиры наибольшее возрастание (10,4%) выявлено в варианте применения штамма M3.

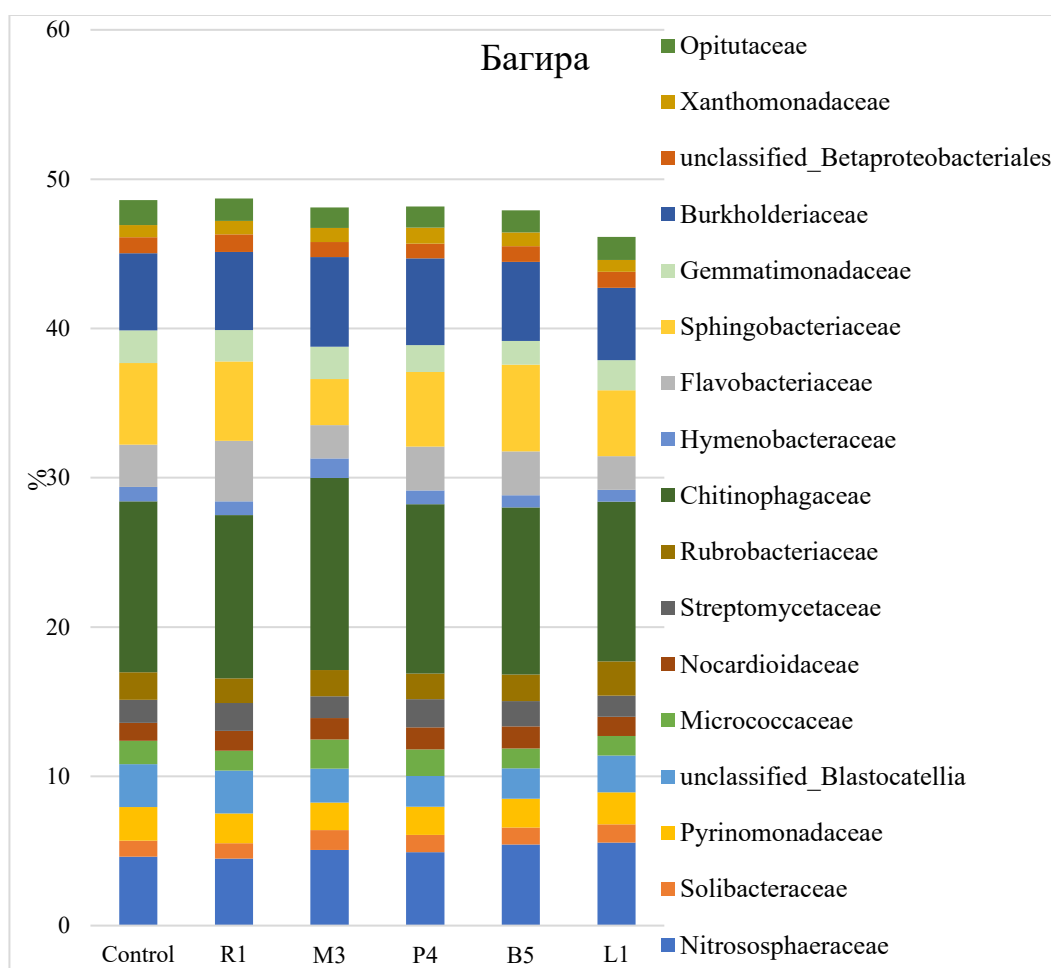
Фила *Verrucomicrobia* известна многосторонними функциями, связанными с участием в круговороте углерода, азота, также ее представители сильно реагируют на физико-химические свойства почвы [200]. В условиях резко выраженного дефицита влаги, у всех сортов в результате большинства вариантов инокуляции выявлена тенденция к снижению доли данной фило.

Наиболее устойчивыми компонентами оставались *Proteobacteria*, *Acidobacteria*, *Actinobacteria* и *Bacteroidetes*, однако направление их реакции существенно зависело от сорта и применяемого штамма. Особенно выраженные

изменения отмечены для *Thaumarchaeota* у сорта Лидия, *Firmicutes* у сорта Багира и *Bacteroidetes* у сорта Лидия.

В условиях 2020 года в микробиоме чернозема южного ризосферы пшеницы трех сортов определено от 126 до 133 семейств, не превышающих 1 % [35] (рисунок 26–28).

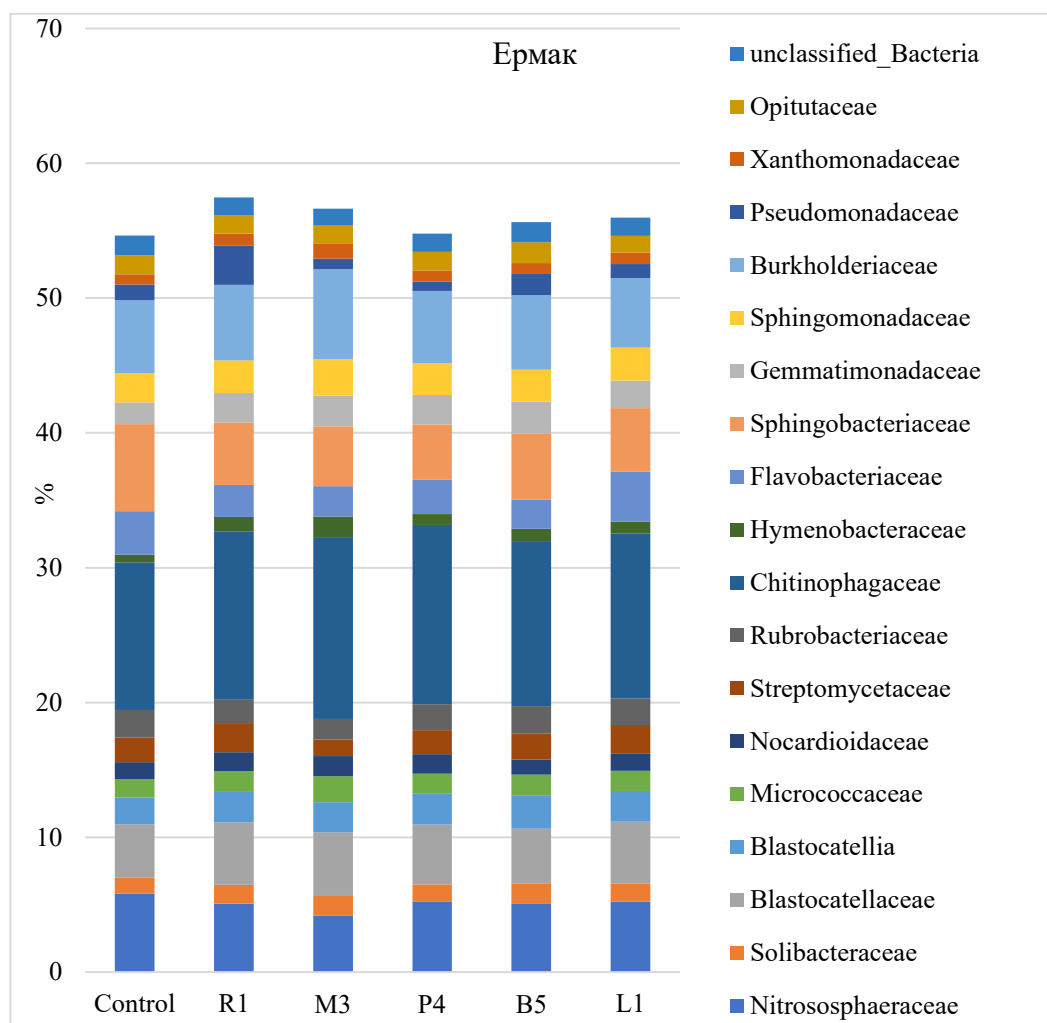
Среди минорных выявлено семейство *Enterobacteriaceae* пектобактерии которого известные фитопатогенные микроорганизмы [63]. Доля представителей данного семейства в ризосфере сорта Багира снижалась в большинстве вариантов инокуляции, на 25,0 – 62,5 % относительно контроля.



Примечание: P4 – *Ps. fluorescens*, M3 и L1 – *P. nitroguajacolicus*, B5 – *B. wiedmanni*, R1 – *A. tumefaciens*, C – контроль без обработки семян.

Рисунок 26 – Влияние штаммов ассоциативных бактерий на таксономическую структуру (на уровне семейств) микробиома ризосферы пшеницы сорта Багира (2020 г.)

На уровне семейств в условиях 2020 года в ризосфере сорта Багира происходило увеличение доли семейства архей *Nitrososphaeraceae* от незначительной тенденции до 21,7 % в варианте применения штамма L1. На сорте Лидия выявлена схожая тенденция. И, наоборот, в ризосфере сорта Ермак установлено снижение доли *Nitrososphaeraceae* под влиянием инокуляции, диапазон составил 10,3 – 27,6%.



Примечание: P4 – *Ps. fluorescens*, M3 и L1 – *P. nitroguajacolicus*, B5 – *B. wiedmanni*, R1 – *A. tumefaciens*, С – контроль без обработки семян.

Рисунок 27 – Влияние штаммов ассоциативных бактерий на таксономическую структуру (на уровне семейств) микробиома ризосферы пшеницы сорта Ермак (2020 г.)

Семейство *Chitinophagaceae* включает микроорганизмы, активно участвующие в деструкции растительных полимеров [230], особенно характерны для почв с естественным восстановлением [142]. В ризосфере сорта

Багира во всех вариантах с инокуляцией выявлено не значительное снижение представителей *Chitinophagaceae*, кроме одного варианта, где доля семейства увеличилась со значения 11,5% в контроле до 12,9% в результате инокуляции штаммом МЗ. На двух других сортах отмечено увеличение доли семейства на уровне тенденций.

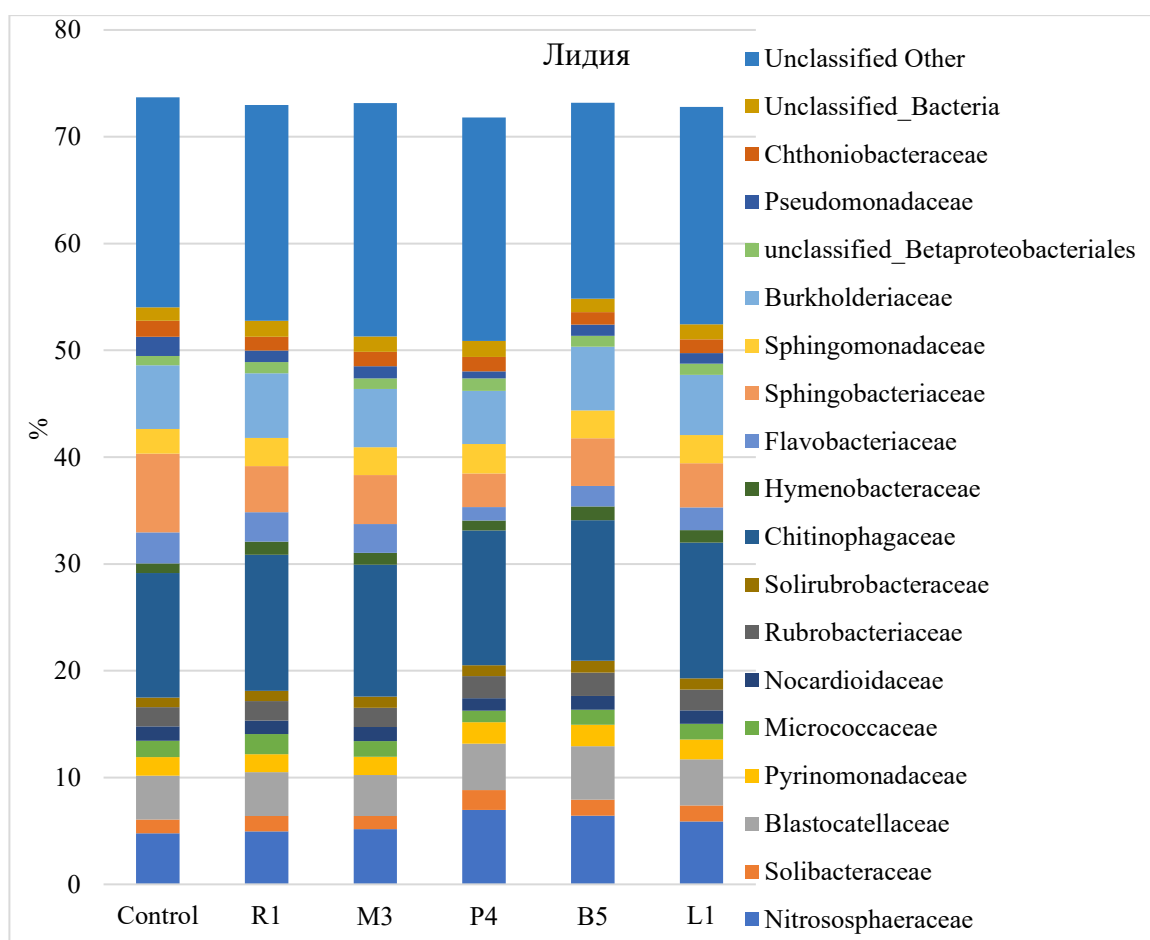
Доля семейства *Sphingomonadaceae* увеличивалось в ризосфере сортов Ермак и Лидия. Некоторые виды данного семейства обладают выраженным потенциалом биологической защиты растений благодаря способности подавлять фитопатогенные микроорганизмы [202].

Характерной особенностью представителей семейства *Micrococcaceae* является высокая метаболическая пластичность, проявляющаяся в способности использовать разнообразные органические соединения в качестве источников углерода и энергии [224]. Доля данного таксона в ризосфере сорта Багира увеличивалась при применении большинства штаммов. Штаммы Р4, МЗ и В5 в ризосфере сорта Багира, а также все испытанные штаммы в ризосфере сорта Ермак способствовали увеличению доли (1,1–1,4 раза относительно контроля) семейства *Xanthomonadaceae* – минорной группы, в состав которой входят в том числе бактерии, стимулирующие рост растений [205].

Семейство *Chthoniobacteraceae*, доминирующие в урбанизированных почвах [142], в ризосфере пшеницы трех сортов демонстрировало в основном тенденцию к снижению доли в большинстве вариантов инокуляции.

В ризосфере сорта Багира инокуляция большинством штаммов приводила к снижению доли представителей семейства *Pseudomonadaceae*, но в двух вариантах обработки выявлено значимое увеличение доли до значения 2,2%. В ризосфере Ермак в варианте со штаммом R1 установлено возрастание доли данного семейства почти в 2,5 раза. Ризосфера сорта Лидия отзывалась снижением доли в ответ на инокуляцию. Известно, что представители семейства *Pseudomonadaceae* преимущественно почвенные микроорганизмы, характеризующиеся высокой метаболической пластичностью с широким спектром функций [115; 206].

Среди представителей таксономической структуры ризосферы пшеницы, превышающих значимую долю – 1 %, занимало семейство *Rubrobacteraceae*, его представители отличаются устойчивостью к экстремальным условиям [142]. На сорте Ермак его доля снижалась под действием всех штаммов, за исключением варианта с L1 на сорте Багира, где снижение не было выявлено. Обратная тенденция, повышение доли отмечена во всех вариантах на сорте Лидия.



Примечание: P4 – *Ps. fluorescens*, M3 и L1 – *P. nitroguajacolicus*, B5 – *B. wiedmanni*, R1 – *A. tumefaciens*, С – контроль без обработки семян.

Рисунок 28 – Влияние штаммов ассоциативных бактерий на таксономическую структуру (на уровне семейств) микробиома ризосферы пшеницы сорта Лидия (2020 г.)

Доля семейства *Sphingobacteriaceae* выраженно изменялась: на всех трех сортах во всех вариантах (кроме В5 на сорте Багира) наблюдалось снижение доли на 2,4–58,1 % по сравнению с контролем.

Анализ биоразнообразия семейств прокариот микробиома ризосферы пшеницы сорта Багира в условиях 2020 года показал следующие его изменения при бактеризации различными штаммами. В результате интродукции штаммов с высоким ассоциативным потенциалом наблюдалась тенденция ($p > 0,05$) к увеличению биоразнообразия, показателем которого является индекс Шеннона. Увеличение индекса Бергера – Паркера, как и индекса Симпсона, означает уменьшение разнообразия и увеличение степени доминирования одного вида. В наших исследованиях изменений данных показателей не наблюдалось (таблица 9).

Таблица 9 – Альфа- и бета-разнообразие семейств прокариот в ризосфере пшеницы сорта Багира при бактеризации различными штаммами (2020 г.)

Индексы	С	В5	Р4	М3	Л1	Р1
Количество таксонов	127,0±1,9	129,8±3,0	126,0±0,6	130,3±2,1	132,0±3,2	131,0±1,4
И _{Симпсона}	0,92±0,00	0,92±0,00	0,92±0,00	0,92±0,00	0,92±0,00	0,92±0,00
И _{Шеннона}	3,32±0,02	3,37±0,01	3,36±0,04	3,33±0,02	3,34±0,03	3,36±0,02
Выравненность	0,22±0,01	0,22±0,00	0,23±0,01	0,21±0,00	0,21±0,00	0,22±0,01
И _{Маргалефа}	27,8±0,4	28,6±0,7	27,9±0,9	28,6±0,5	29,1±0,7	29,0±0,2
И _{Бергера-Паркера}	0,17±0,01	0,17±0,00	0,17±0,01	0,17±0,00	0,17±0,00	0,17±0,00
И _{Уиттакера}	0,13	0,10	0,12	0,12	0,11	0,11

Примечание: Р4 – *Ps. fluorescens*, М3 и Л1 – *P. nitroguajacolicus*, В5 – *B. wiedmanni*, Р1 – *A. tumentiaciens*, С – контроль без обработки семян.

В условиях 2020 года установлены различия между группами образцов с применением ассоциативных штаммов и контролем в условиях 2020 года (рисунки 29–31) при помощи анализа главных координат.

Варианты формируют обособленные кластеры, что свидетельствует о разнице в структурах микробиома. На сорте Багира и Ермак на графике

наблюдается частичное перекрывание, что указывает на наличие как групповых различий, так и сходства между исследуемыми объектами.

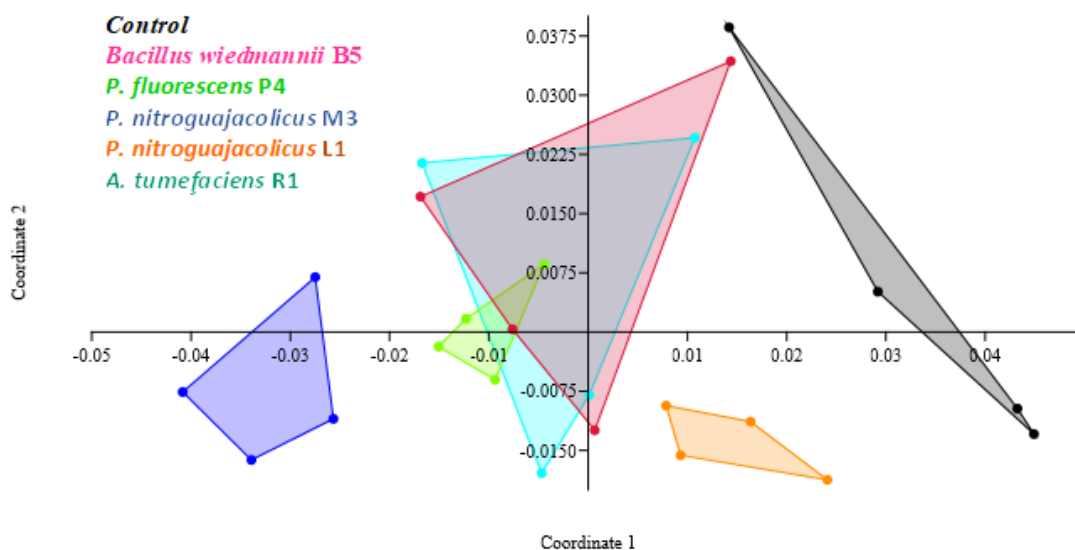


Рисунок 29 – Анализ главных координат (РСоА) для микробных сообществ ризосферы пшеницы сорта Ермак на уровне семейств (2020 г.)

В контрольном варианте зафиксирован умеренный разброс данных, отражающий значимые различия между повторностями. На сорте Лидия штаммы B5 и L1 продемонстрировали близкое влияние на структуру микробиома.

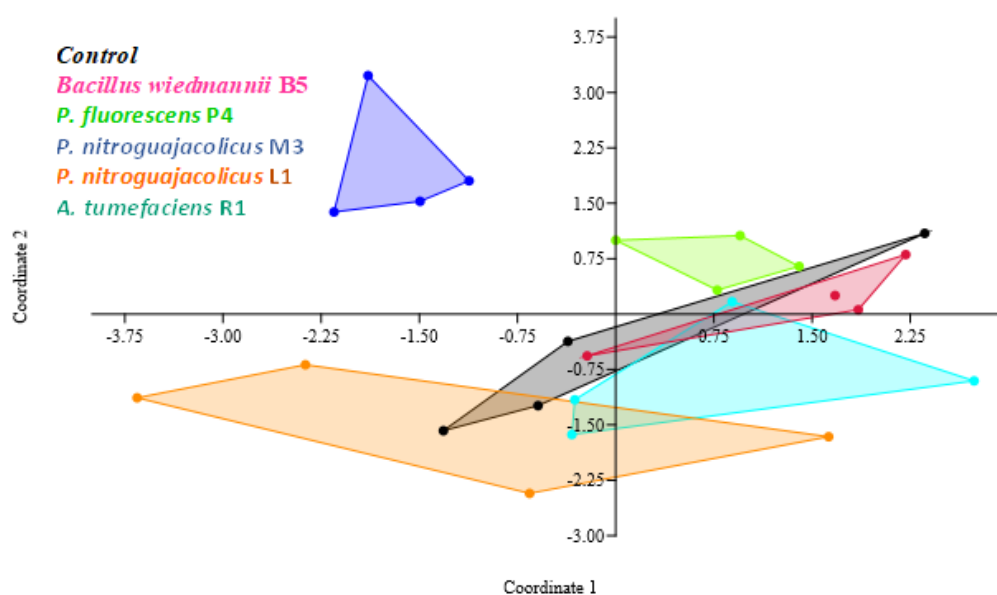


Рисунок 30 – Анализ главных координат (РСоА) для микробных сообществ ризосферы пшеницы сорта Багира на уровне семейств (2020 г.)

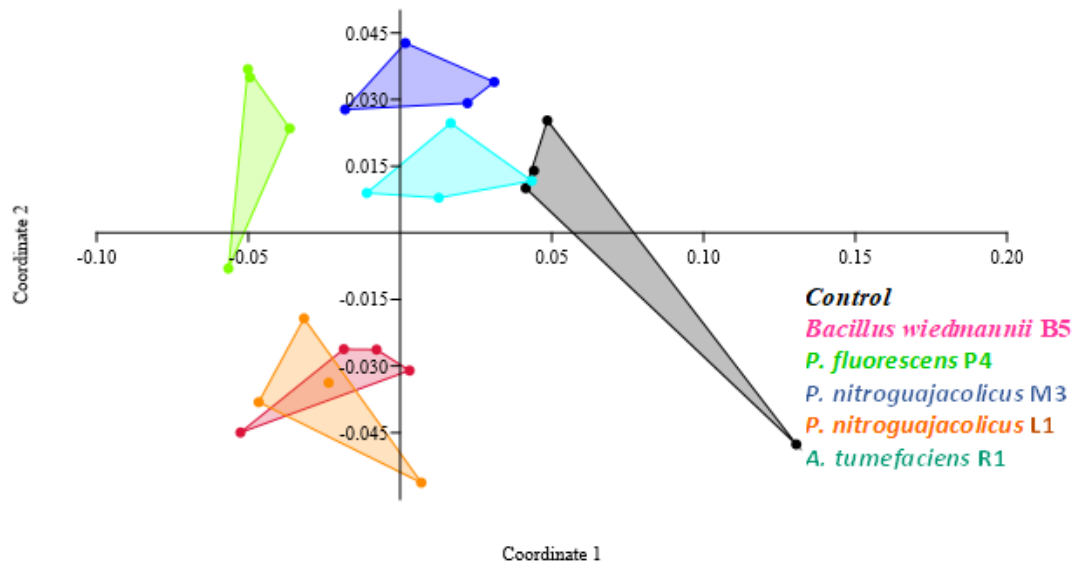


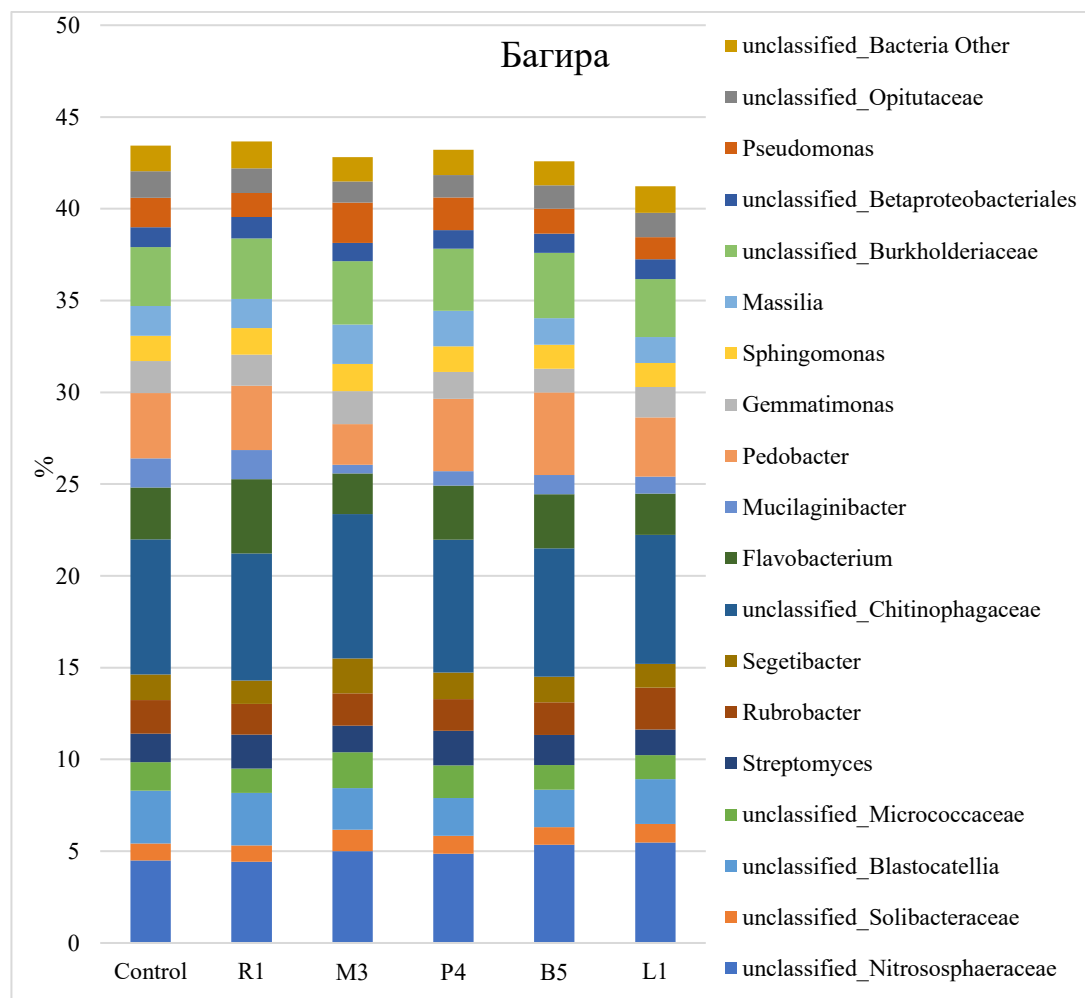
Рисунок 31 – Анализ главных координат (РСоА) для микробных сообществ ризосферы пшеницы сорта Лидия на уровне семейств (2020 г.)

Штамм М3 продемонстрировал обособленный эффект на всех исследованных сортах озимой пшеницы. Наиболее выраженные изменения таксономической структуры ризосферного микробиома под влиянием инокуляции зафиксированы на сортах Ермак и Лидия в активную фазу вегетации. На уровне родов в условиях 2020 года выявлены существенные сдвиги таксономического состава ризосферы у всех трех сортов (рисунки 32–34).

Представители рода бактерий *Pedobacter* семейства *Sphingobacteriaceae*, способные адаптироваться к экстремальным условиям, известны наличием генов устойчивости к антимикробным препаратам [160]. У сортов Лидия и Ермак доля рассматриваемого рода снижалась под действием всех испытанных штаммов в 1,4–2,5 раза относительно контроля. На сорте Багира в вариантах со штаммами Р4 и В5 зафиксировано увеличение доли рода *Pedobacter* в 1,1 раза и 1,3 раза соответственно по сравнению с контролем.

Доля рода *Rubrobacter*, представители которого адаптированы к полужасушливым условиям, а численность служит индикатором здорового почвенного сообщества [184], варьировала в зависимости от сорта пшеницы и применяемого штамма. На сорте Лидия во всех вариантах инокуляции

зафиксировано повышение доли этого рода. На сорте Багира увеличение доли *Rubrobacter* отмечен только в варианте со штаммом L1, превышение над контролем составило 1,3 раза.

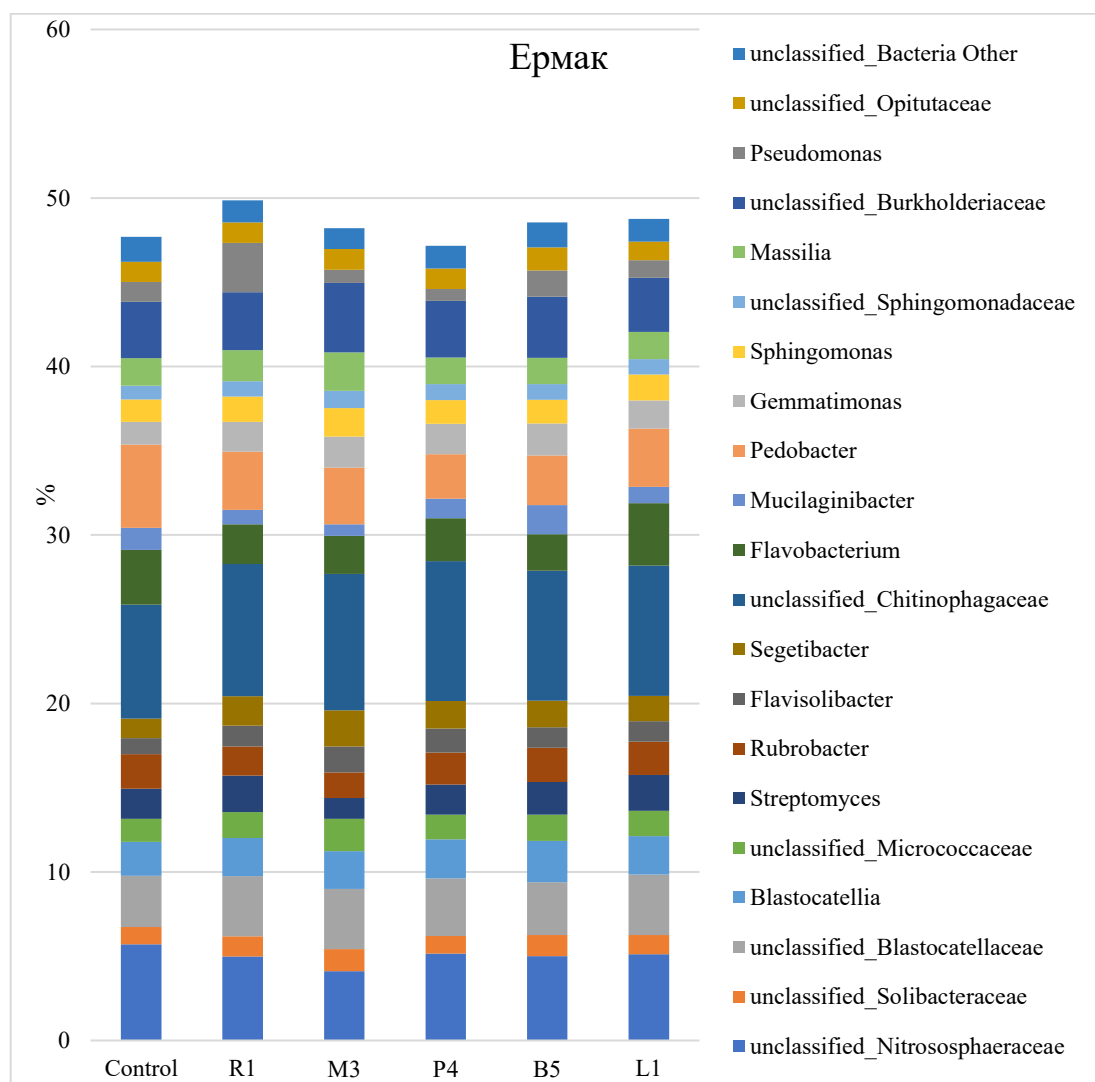


Примечание: P4 – *Ps. fluorescens*, M3 и L1 – *P. nitroguajacolicus*, B5 – *B. wiedmanni*, R1 – *A. tumefaciens*, С – контроль без обработки семян.

Рисунок 32 – Влияние штаммов ассоциативных бактерий на таксономическую структуру (на уровне рода) микробиома ризосферы пшеницы сорта Багира (2020 г.)

Доля рода *Gemmatimonas* в ризосфере сортов Лидия и Ермак возросла в 1,1–1,4 раза под влиянием всех испытанных штаммов по сравнению с контрольным вариантом. Представители рода *Gemmatimonas* катализируют терминальную стадию денитрификации и выступают единственным известным биологическим поглотителем парникового газа закиси азота [138; 201].

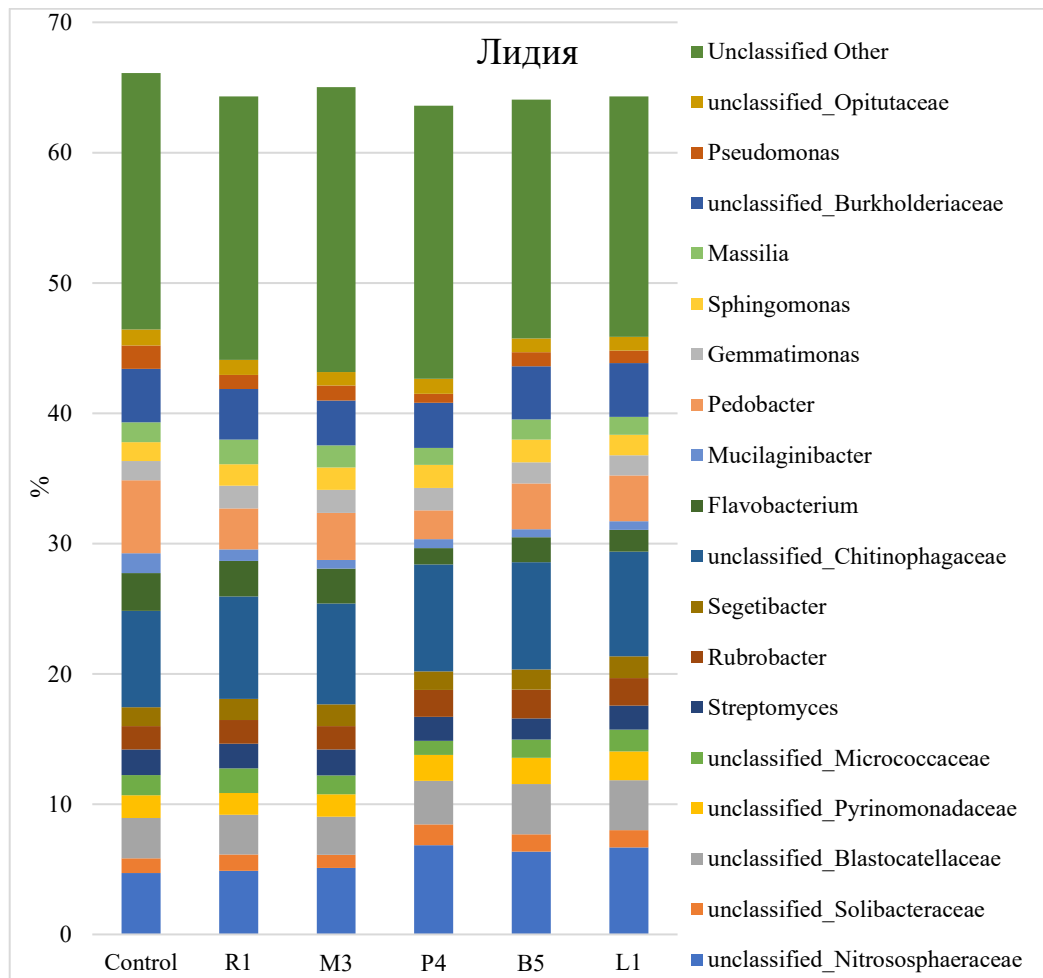
Широко распространенный в различных средах, от почвы и ризосферы растений до экстремальных местообитаний, род *Massilia* обладает комплексом механизмов прямой и косвенной стимуляции роста растений [171; 208]. В ризосфере сортов Багира и Ермак максимальная стимуляция представленности данного рода отмечена при применении штамма МЗ, прирост составил 37,5 % для сорта Багиры и 43,8 % для Ермака относительно контроля.



Примечание: P4 – *Ps. fluorescens*, M3 и L1 – *P. nitroguajacolicus*, B5 – *B. wiedmanni*, R1 – *A. tumefaciens*, С – контроль без обработки семян.

Рисунок 33 – Влияние штаммов ассоциативных бактерий на таксономическую структуру (на уровне рода) микробиома ризосферы пшеницы сорта Ермак (2020 г.)

Засушливые условия 2020 года сопровождались перестройкой таксономической структуры ризосферного микробиома озимой пшеницы. Полученные данные позволяют заключить, что формирование микробного сообщества в ризосфере происходило в результате совместного действия погодного стресса, генотипа растения и специфических свойств используемых бактериальных штаммов.



Примечание: P4 – *Ps. fluorescens*, M3 и L1 – *P. nitroguajacolicus*, B5 – *B. wiedmanni*, R1 – *A. tumefaciens*, C – контроль без обработки семян.

Рисунок 34 – Влияние штаммов ассоциативных бактерий на таксономическую структуру (на уровне рода) микробиома ризосферы пшеницы сорта Лидия (2020 г.)

Полученные данные подтверждают, что изучаемые ризобактериальные ассоциативные штаммы способны существенно влиять на таксономическую структуру ризосферного микробиома пшеницы озимой в условиях чернозема

южного степной зоны Крыма. Метагеномный анализ выявил значительную долю неопределенных таксонов на уровне доменов. Показано, что интродуцируемые бактерии оказывают положительное влияние на относительную численность метаболически значимых фил, семейств и родов, тем самым формируя более продуктивно и экологически ориентированный профиль микробиома.

3.4.3 Агрохимическая эффективность инокуляции и ее влияние на биометрические показатели, продуктивность, структуру урожая

Агрохимическая сущность действия инокуляции проявляется через активизацию почвенной микрофлоры. Использование микробных препаратов на семенах не ограничивается прямым влиянием на растение, а является эффективным инструментом управления плодородием почвы [122].

Известно, что многие питательные элементы в почве находятся в малорастворимом или нерастворимом состоянии, что препятствует нормальному круговороту питательных веществ в почве, при этом микроорганизмы могут изменять уровень pH ризосферы, способствовать выделению органических кислот для расщепления минералов, тем самым способствуя поглощению питательных веществ растениями, а также их переработке и усвоению в почвенной среде [168].

Показатель ЕС (концентрация солей) используется для определения засоления почв, на основе удельной электропроводности [120]. В условиях 2019 года в результате применения штаммов, в большей части вариантов инокуляции со статистически значимой разницей в сравнении с контролем, выявлено снижение данного показателя, что говорит об уменьшении концентрации солей (таблица 10).

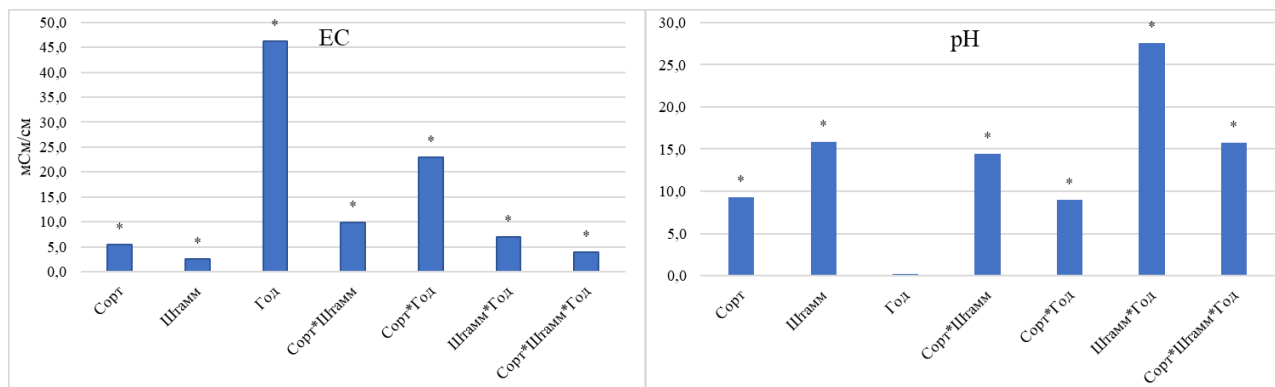
Таблица 10 – Влияние штаммов ассоциативных бактерий с *T. aestivum* на агрохимические показатели ризосферы (2019 г.)

Сорт	Штамм	ЕС, мСм/см	pH	N-NO ₃ ⁻ , мг/100 г почвы	P ₂ O ₅ мг/100г ПОЧВЫ	K ₂ O мг/100г ПОЧВЫ	Гумус, %
Багиря	P4	0,08±0,002*	7,51±0,017*	0,49±0,021	4,07±0,12	66,3±0,20*	2,89±0,05
	M3	0,07±0,001	7,35±0,012*	0,27±0,022*	3,43±0,15*	66,3±0,38*	2,83±0,07
	B5	0,06±0,001*	7,31±0,018*	0,79±0,018*	4,23±0,15	66,1±0,59*	2,87±0,07
	R1	0,07±0,001	7,43±0,026	0,39±0,026*	3,90±0,12*	66,6±0,60*	2,82±0,1
	L1	0,06±0,002*	7,45±0,026	0,59±0,018*	3,97±0,12*	61,4±0,27	2,83±0,03
	C	0,07±0,002	7,45±0,017	0,49±0,009	4,27±0,12	61,4±0,78	2,75±0,01
Ермак	P4	0,10±0,006*	7,52±0,012*	0,41±0,024	4,53±0,09*	66,1±0,59*	2,85±0,04
	M3	0,13±0,001*	7,32±0,01*	0,29±0,009*	4,40±0,06*	60,1±0,59	2,70±0,02
	B5	0,08±0,001*	7,45±0,08	0,50±0,012*	4,17±0,18	60,9±0,47*	2,91±0,04
	R1	0,10±0,006*	7,34±0,012*	0,32±0,027*	4,47±0,09*	66,0±0,54*	2,75±0,04
	L1	0,09±0,002*	7,45±0,015	0,50±0,017*	4,00±0,12	66,2±0,46*	2,79±0,05
	C	0,11±0,001	7,45±0,015	0,40±0,015	4,00±0,12	59,4±0,31	2,88±0,06
Лидия	P4	0,09±0,001	7,52±0,023*	0,50±0,026	4,93±0,15*	66,0±0,54*	2,80±0,12
	M3	0,08±0,001*	7,35±0,029*	0,59±0,018*	5,00±0,12*	66,4±0,92*	2,88±0,18
	B5	0,09±0,001	7,42±0,02	0,60±0,017*	5,00±0,12*	59,1±0,58*	2,83±0,09
	R1	0,10±0,009*	7,46±0,012	0,41±0,012*	5,17±0,09*	64,3±0,32*	2,76±0,06
	L1	0,110±0,001*	7,74±0,007*	0,69±0,021*	4,80±0,06*	68,5±0,33*	2,85±0,07
	C	0,09±0,002	7,45±0,012	0,49±0,023	4,33±0,03	61,3±0,68	2,78±0,02

Примечание: * – статистическая значимость различий ($p < 0,05$) относительно контроля; P4 – *Ps. fluorescens*, M3 и L1 – *P. nitroguajacolicus*, B5 – *B. wiedmanni*, R1 – *A. tumefaciens*, C – контроль без обработки семян

Схожая тенденция выявлена в условиях 2020 года. Показатель Ph ризосферы пшеницы озимой варьировал от 7,31 до 7,55 за 2 года наблюдений.

Трехфакторный дисперсионный анализ данных показал, что наибольшее влияние на показатель электропроводности оказывал фактор Год из всех исследуемых значимых показателей (рисунок 35).



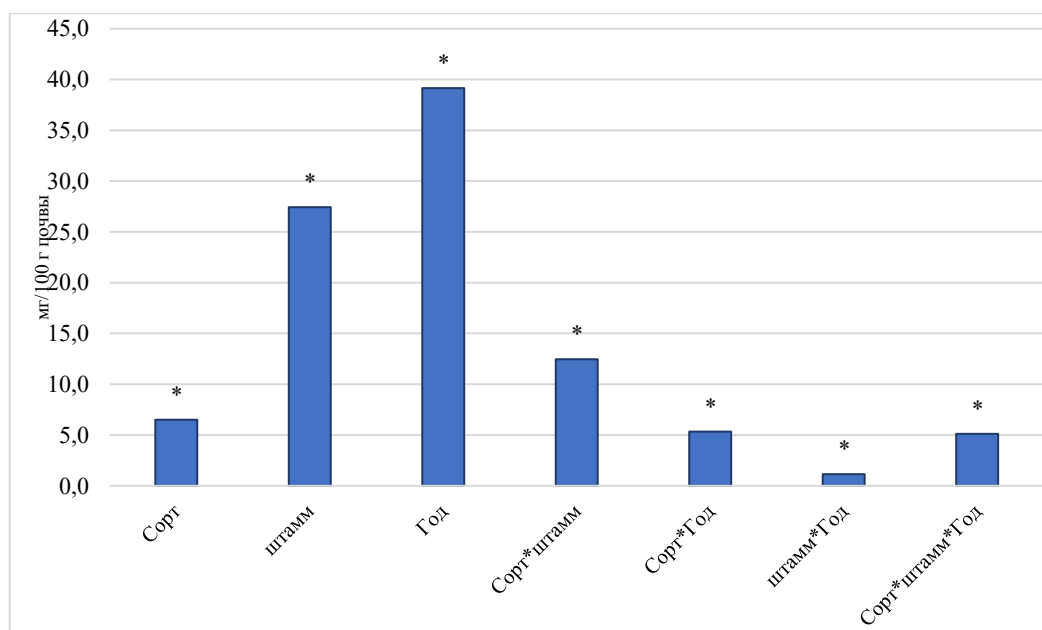
Примечание: * – статистически значимые факторы ($p < 0,05$)

Рисунок 35 – Доля действия факторов на показатели Es и Ph трех сортов пшеницы (2018-2020 гг.)

Сорт	Штамм	ЕС, мСм/см	pH	N-NO ₃ ⁻ , мг/100 г почвы	P ₂ O ₅ мг/100г почвы	K ₂ O мг/100г почвы	Гумус, %
Багира	P4	0,15±0,002*	7,51±0,006	0,48±0,015*	8,69±0,047	98,1±0,50*	3,33±0,088
	M3	0,14±0,001	7,52±0,015	0,49±0,021*	8,88±0,05*	93,5±0,29*	3,35±0,087
	B5	0,14±0,002	7,45±0,006*	0,78±0,027*	8,80±0,026*	88,7±0,15*	3,26±0,087
	R1	0,12±0,001*	7,45±0,009*	0,59±0,029*	8,80±0,058*	90,3±0,46	3,25±0,087
	L1	0,14±0,001	7,40±0,029*	0,67±0,018	8,30±0,058	87,3±0,18*	3,23±0,057
	C	0,14±0,007	7,55±0,009	0,69±0,021	8,40±0,058	90,0±0,66	3,23±0,037
Ермак	P4	0,13±0,003*	7,36±0,015*	0,78±0,012*	8,91±0,012	87,8±0,12*	3,25±0,087*
	M3	0,13±0,001*	7,35±0,009*	0,70±0,009*	9,07±0,037	98,3±0,20*	3,17±0,203*
	B5	0,14±0,001*	7,45±0,012	0,80±0,020*	9,03±0,088	86,4±0,26*	3,29±0,173*
	R1	0,10±0,006*	7,33±0,017*	0,62±0,012	8,83±0,12	86,4±0,32*	3,32±0,091*
	L1	0,14±0,001*	7,41±0,012	0,69±0,021*	8,77±0,088	88,6±0,31*	3,26±0,087*
	C	0,12±0,002	7,41±0,012	0,58±0,019	9,00±0,115	81,3±0,69	2,41±0,064
Лидия	P4	0,13±0,002*	7,43±0,017*	0,70±0,015	9,10±0,115	91,3±0,35*	3,27±0,088
	M3	0,08±0,001*	7,44±0,018*	0,70±0,015	8,57±0,088*	88,6±0,34*	3,00±0,113*
	B5	0,11±0,001*	7,45±0,015*	0,79±0,018*	9,07±0,088	91,1±0,52*	3,30±0,173
	R1	0,11±0,001*	7,44±0,019*	0,60±0,012*	9,10±0,208	94,6±0,30*	3,24±0,184
	L1	0,12±0,001*	7,35±0,012	0,90±0,015*	8,70±0,058	91,1±0,32*	3,47±0,064
	C	0,09±0,002	7,52±0,023	0,70±0,017	8,87±0,088	97,3±0,25	3,37±0,05

Примечание: * – статистическая значимость различий ($p < 0,05$) относительно контроля; P4 – *Ps. fluorescens*, M3 и L1 – *P. nitroguajacolicus*, B5 – *B. wiedmanni*, R1 – *A. tumefaciens*, C – контроль без обработки семян.

В ризосфере сорта Багира наблюдалось снижение содержания нитратного азота практически во всех вариантах инокуляции ассоциативными штаммами, исключение составил штамм В5, в результате применения которого выявлено увеличение показателя на 13 % относительно контроля (до 0,69 мг/100 г почвы). В ризосфере сорта Ермак выявлено увеличение содержания нитратного азота во всех вариантах инокуляции от тенденции до 25 %. Установлено, что в ризосфере сорта Лидия увеличение данного показателя в условиях двух лет установлено в вариантах – L1, В5, R1 и М3 которое составило от 20,4 до 40,8 % относительно варианта без инокуляции. На рисунке 36 показано, что наибольший вклад на содержание нитратного азота оказывал фактор Год, второе по силе влияние выявлено при действии фактора Штамм.



Примечание: * – статистически значимые факторы ($p < 0,05$)

Рисунок 36 – Доля действия факторов на показатели нитратного азота трех сортов пшеницы (2018-2020 гг.)

Почвенная микробиота играет важную роль в преобразовании нелабильного фосфора в почве в фосфор в микробной биомассе [222]. Наблюдения за содержанием подвижного фосфора в 2019 и 2020 гг. в ризосфере сорта Ермак показали увеличение в вариантах применения штаммов R1 и P4 (2019 г), в остальных – значимого влияния не выявлено относительно

контрольного варианта. В ризосфере сорта Багира выявлены противоположные тенденции: в условиях 2019 года снижение содержания подвижного фосфора в трех вариантах инокуляции, а в условиях 2020 года – увеличение. Данный показатель достоверно увеличивался в ризосфере Лидия в условиях 2019 года – при применении всех штаммов в диапазоне от 10,9 до 19,4 % относительно контроля.

В ходе исследований установлено, что на значение параметра содержания подвижного фосфора в ризосфере сортов пшеницы, наибольшая доля влияния оказана фактором год, статистически несущественное ($p>0,05$) сочетание факторов в таблице 12 выделено серым фоном.

Таблица 12 – Доля действия факторов на показатели подвижного фосфора трех сортов пшеницы (2018-2020 гг.)

Факторы	SS	%	Степени	MS	F	p
Сорт	5,951	1,078	2	2,976	91,8	0,000000
Штамм	1,535	0,278	5	0,307	9,5	0,000001
Год	536,182	97,087	1	536,182	16534,2	0,000000
Сорт*Штамм	0,916	0,166	10	0,092	2,8	0,005144
Сорт*Год	2,479	0,449	2	1,240	38,2	0,000000
Штамм*Год	0,207	0,037	5	0,041	1,3	0,283613
Сорт*Штамм*Год	2,667	0,483	10	0,267	8,2	0,000000

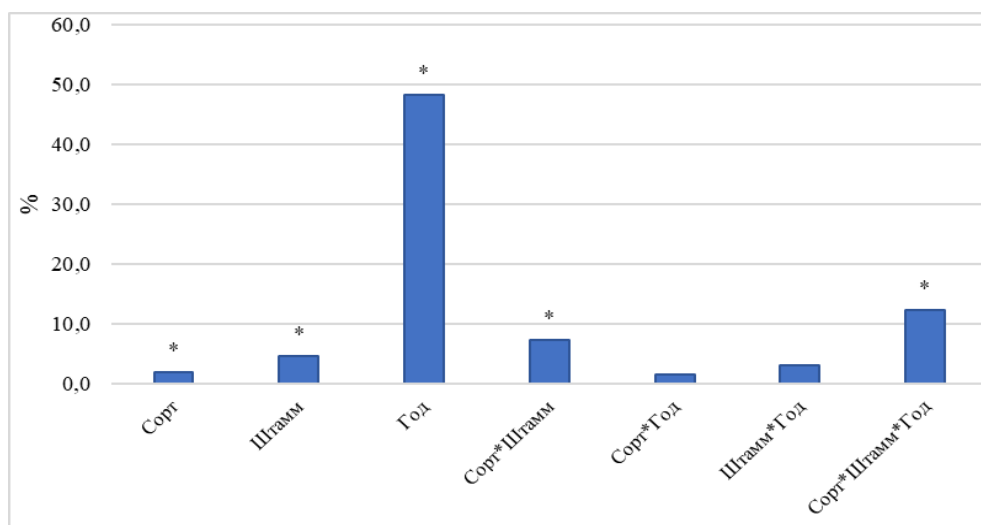
Взаимодействие между растениями и микроорганизмами в ризосфере определяет доступность питательных веществ и их циркуляцию [188]. Содержание подвижного калия в условиях 2019 года увеличивалось на сортах Багира, Ермак и Лидия во всех вариантах инокуляции кроме штаммов L1, M3 и B5 соответственно. В условиях 2020 года в ризосфере сорта Ермак обработка всеми штаммами привела к увеличению количества содержания калия, в ризосфере сорта Лидия выявлена обратная направленность.

Дисперсионный анализ показал, что на содержание подвижного калия наибольшее влияние оказывали условия года, на втором месте по влиянию был фактор Штамм (таблица 13).

Таблица 13 – Доля действия факторов на показатели подвижного калия трех сортов пшеницы (2018-2020 гг.)

Факторы	SS	%	Степени	MS	F	p
Сорт	153,5	0,7	2	76,8	117,7	0,000000
Штамм	276,3	1,3	5	55,3	84,7	0,000000
Год	19066,9	92,6	1	19066,9	29229,6	0,000000
Сорт*Штамм	359,3	1,7	10	35,9	55,1	0,000000
Сорт*Год	41,7	0,2	2	20,9	32,0	0,000000
Штамм*Год	108,4	0,5	5	21,7	33,2	0,000000
Сорт*Штамм*Год	545,1	2,6	10	54,5	83,6	0,000000

В условиях 2019 года статистически значимого влияния инокуляции на содержание гумуса не выявлено, однако в 2020 году исследования показали увеличение данного показателя во всех вариантах применения штаммов от 31,5 до 37,8 % относительно контроля в ризосфере сорта Ермак. На содержание гумуса максимальное влияние также оказывал фактор Год (рисунок 37).

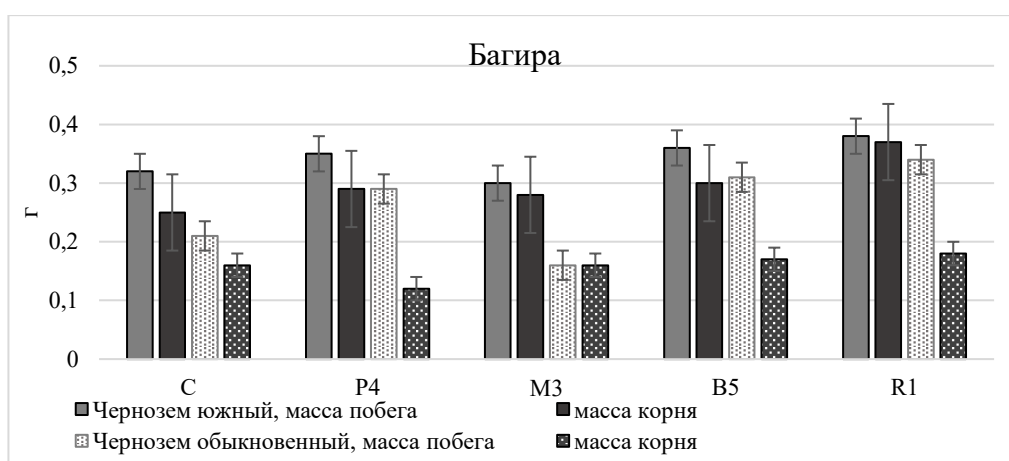


Примечание: * – статистически значимые факторы ($p < 0,05$)

Рисунок 37 – Влияние факторов на содержание гумуса ризосферы пшеницы озимой

Таким образом проведенные исследования влияния предпосевной инокуляции на агрохимические показатели ризосферы пшеницы озимой трех сортов показали, что наибольшее влияние на данные параметры оказывают условия года. Влияние факторов штамм, сорт и их сочетаний было статистически значимым, но менее выраженным.

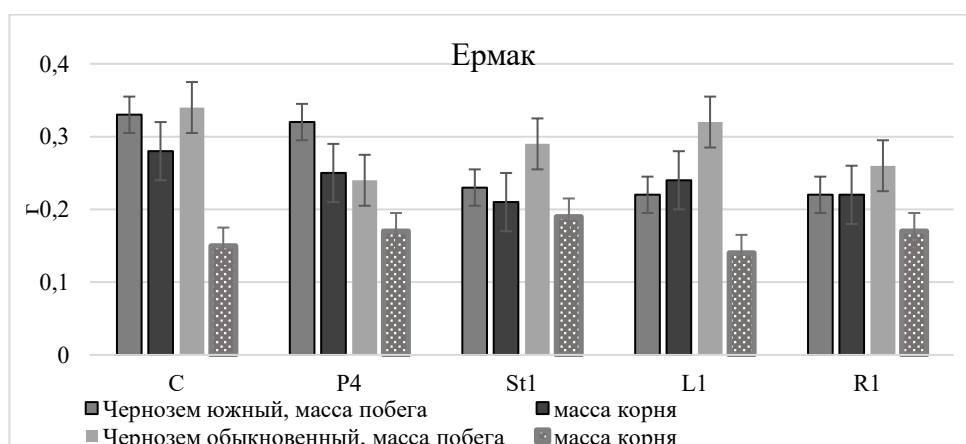
Известно, что бактерии с высоким ассоциативным потенциалом способны оказывать влияние на продуктивность растений [16; 40; 53; 111]. Исследования в условиях вегетационного опыта в 2018 году показали, что нововыделенные штаммы бактерий отличались по эффективности при выращивании на черноземах южном и обыкновенном на трех сортах пшеницы. На черноземе обыкновенном большая часть исследуемых штаммов положительно влияли на показатели роста и развития растений сортов Багира и Лидия (рисунки 38 – 40).



Примечание: P4 – *Ps. fluorescens*, M3 – *P. nitroguajacolicus*, B5 – *B. wiedmanni*, R1 – *A. tumefaciens*, C – контроль

Рисунок 38 – Влияние штаммов ассоциативных бактерий с *T. aestivum* на продуктивность растений пшеницы озимой сорта Багира

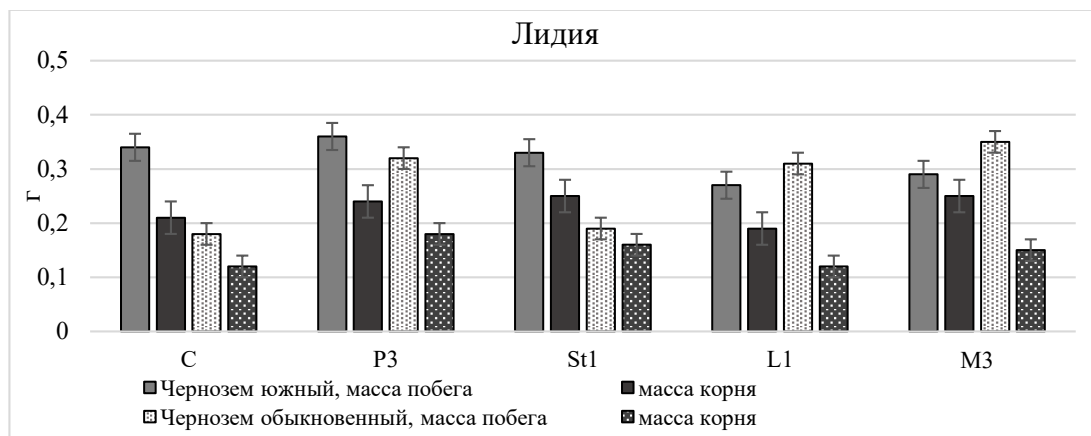
На фоне контрольного значения 0,21 г штаммы B5 и R1 обеспечили прирост сухой биомассы побега на 0,10 г (48 %) и 0,13 г (62 %) соответственно.



Примечание: P4 – *Ps. fluorescens*, St 1 – *Pseudarthrobacter oxydans*, L1 – *P. nitroguajacolicus*, R1 – *A. tumefaciens*, C – контроль.

Рисунок 39 – Влияние штаммов ассоциативных бактерий с *T. aestivum* на продуктивность растений пшеницы озимой сорта Ермак

У сорта Лидия (контроль – 0,18 г) инокуляция штаммом М3 привела к увеличению биомассы побега на 0,17 г (94 %), штаммом L1 – на 0,13 г (72 %). Предпосевная инокуляция штаммом Р3 способствовала одновременному росту массы побега на 0,14 г (78 %) и сухого корня на 0,06 г (50 %).



Примечание: Р3 – *Ps. fluorescens*, М3 и L1 – *P. nitroguajacolicus*, St 1 – *Pseudarthrobacter oxudans*, С – контроль без обработки семян.

Рисунок 40 – Влияние штаммов ассоциативных бактерий с *T. aestivum* на продуктивность растений пшеницы озимой сорта Лидия

Не выявлено положительного влияния нововыделенных штаммов на все сорта в черноземе обыкновенном, а также на сорт Ермак – в обоих типах почв.

Ростовые процессы служат интегральным показателем физиологического состояния растений. В фазу цветения озимой пшеницы трех сортов в более благоприятных условиях 2019 года выявлено положительное влияние штаммов на продуктивность (таблица 14).

У сорта Ермак под действием штамма В5 зафиксировано увеличение длины побега на 4,3 см (5,9 %) и массы высушенного побега – на 0,5 г (31,2 %) относительно контроля. У сорта Багира прирост массы побега был более выраженным и составил 1,0 г (62,5 %). Штамм R1 обеспечил увеличение массы побега у сорта Ермак на 0,6 г (37,5 %), штамм L1 – у сорта Багира на 0,8 г, что составило 50 % к контролю.

В условиях 2020 года положительное влияние штаммов проявилось избирательно: достоверный эффект отмечен только у сорта Багира при применении штамма R1, увеличение длины побега составило 4,2 см, значение

превышало контроль на 7,1 %. Возрастания массы высушенного побега трех сортов пшеницы озимой в результате инокуляции семян штаммами ассоциативных бактерий не выявлено.

Таблица 14 – Влияние ассоциативных штаммов на продуктивность растений трех сортов пшеницы (полевой опыт, фаза цветения)

Сорт (фактор А)	Штамм (фактор В)	2019 г.		2020 г.	
		Длина побега, см	Масса высушенного побега, г	Длина побега, см	Масса высушенного побега, г
Ермак	P4	74,8	1,7	59,5	4,3
	M3	73,1	1,9	60,8	4,8
	B5	77,3	2,1*	65,3	5,2
	R1	74,3	2,2*	57,7	5,2
	L1	73,7	1,8	63,0	5,3
	C	73,0	1,6	62,9	5,9
Багира	P4	70,4	1,4	60,6	5,5
	M3	72,8	1,7	55,9	4,3
	B5	70,6	2,6*	57,1	4,0
	R1	74,3	2,0	63,5	6,9
	L1	73,6	2,4*	60,0	6,5
	C	72,4	1,6	59,3	6,3
Лидия	P4	75,5	2,1	65,5	5,1
	M3	74,4	2,0	59,9	5,1
	B5	76,4	2,4	63,5	5,5
	R1	77,2	1,8	62,1	6,1
	L1	75,7	1,7	63,2	4,7
	C	75,1	2,4	61,6	5,7
НСР ₀₅ АВ		3,9	0,7	5,05	1,67
Фактор А – сорт		1,6	0,3	2,91	0,63
Фактор В –штамм		1,9	0,3	1,91	0,84
Примечание:* – статистическая значимость различий ($p < 0,05$) относительно контроля; P4 – <i>Ps. fluorescens</i> , M3 и L1 – <i>P. nitroguajacolicus</i> , B5 – <i>B. wiedmanni</i> , R1 – <i>A. tumefaciens</i> , C – контроль без обработки семян.					

Предпосевная инокуляция семян пшеницы озимой штаммами бактерий в условиях 2019 года не повлияла на сроки наступления фенологических фаз у различных сортов по изучаемым вариантам обработки (таблица 15).

Анализ показателей структуры урожая озимой пшеницы показал, что влияние штаммов было незначительным. В варианте применения штамма M3 наблюдалась тенденция увеличения количества продуктивных стеблей на сорте

Ермак и Лидия. Число зерен в колосе сорта Багира увеличивалось под влиянием штаммов B5, R1 и L1, а на сорте Лидия при применении штамма M3 по сравнению с контролем.

Таблица 15 – Влияние ассоциативных штаммов на показатели продуктивности сортов озимой пшеницы трех сортов (2019 г.)

Сорт (фактор А)	Штамм (фактор В)	Кол-во продукт. стеблей, шт./м2	Число зерен в колосе, шт.	Масса зерна с колоса, г	Масса 1000 зерен, г	Натура зерна. г/л
Ермак	P4	426	34	1,2	37,0	743
	M3	465	35	1,4	37,2	743
	B5	413	35	1,3	37,4	743
	R1	441	34	1,2	36,8	744
	L1	426	35	1,3	38,6	748
	C	416	34	1,3	38,0	748
Среднее		431	35	1,3	37,6	745
Багира	P4	536	36	1,2	34,6	751
	M3	498	36	1,2	34,0	756
	B5	473	39	1,3	34,0	750
	R1	538	38	1,3	34,4	753
	L1	526	37	1,3	34,4	753
	C	557	35	1,2	34,4	753
Среднее		521	37	1,3	34,4	753
Лидия	P4	474	34	1,2	36,8	736
	M3	571	35	1,3	35,4	736
	B5	469	34	1,2	36,0	739
	R1	531	32	1,1	36,0	737
	L1	540	31	1,1	36,4	731
	C	539	33	1,2	36,8	732
Среднее		521	33	1,2	36,2	735
НСР 05		A – 38,0 B – 53,0 AB – 92,0	A – 2,0 B – 2,0 AB – 4,0	A – 0,1 B – 0,1 AB – 0,2	A – 0,4 B – 0,6 AB – 1,1	A – 3,44 B – 4,86 AB – 8,42
Примечание: P4 – <i>Ps. fluorescens</i> , M3 и L1 – <i>P. nitroguajacolicus</i> , B5 – <i>B. wiedmanni</i> , R1 – <i>A. tumefaciens</i> , C – контроль без обработки семян						

В 2020 году условия вегетационного периода на всех этапах вегетации были по большей части неблагоприятными для роста и развития озимой пшеницы. Всходы на всех исследуемых вариантах опыта получены 25 декабря (спустя 70 дней после посева). Длительность периода посев – всходы привела к частичной гибели семян изучаемых сортов озимой пшеницы, в результате чего на делянках опыта был получен неравномерно изреженный стеблестой.

Биометрический анализ снопов, отобранных с таких делянок, не позволил объективно оценить влияние инокуляции семян штаммами ассоциативных бактерий на элементы структуры урожая изучаемых сортов озимой пшеницы из-за значительной пестроты полученных данных.

Методом двухфакторного дисперсионного анализа определены доли участия исследуемых факторов в формировании урожая озимой пшеницы (таблица 16). Установлено, что характер влияния факторов варьировал по годам. В условиях 2019 года все факторы оказывали статистически значимое влияние на урожайность. Доля фактора Сорт составила 16,2 %, взаимодействия Сорт и Штамм 27,6 %. Наибольший вклад в формирование урожайности в благоприятных погодных условиях 2019 года обеспечил фактор Штамм и составил 43,2 % (рисунок 41).

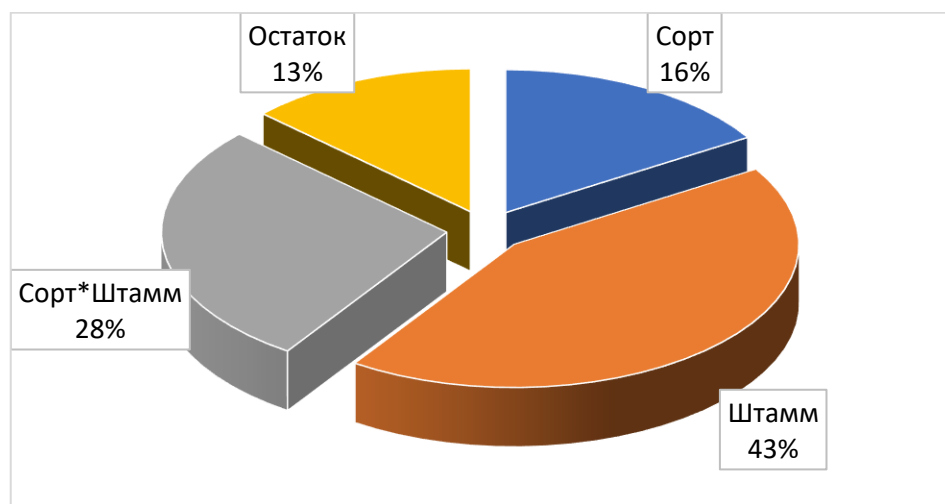


Рисунок 41 – Диаграмма влияние факторов на формирование урожайности пшеницы озимой трех сортов (полевой опыт, 2019 г.)

Для наглядности статистически несущественные ($p > 0,05$) сочетания факторов в таблице выделены серым фоном. В 2020 и 2021 годах основным детерминирующим фактором продуктивности выступал фактор Сорт, его доля составила 17,6 % и 31,3 % соответственно.

Таблица 16 – Результаты дисперсионного анализа влияния факторов на урожайность пшеницы озимой трех сортов (полевой опыт, 2019-2021 гг.)

Фактор	Сумма квадратов (SS)	Доля влияния фактора, %	Степени свободы (df)	Средний квадрат (MS)	Критерий Фишера (F)	Уровень значимости (p)
2019 г.						
Сорт (A)	0,3	16,2	2,0	0,1	22,4	0,00
Штамм (B)	0,8	43,2	5,0	0,2	24,0	0,00
A*B (Сорт*Штамм)	0,5	27,6	10,0	0,0	7,7	0,00
остаток	0,2	13,0	36,0	0,0		
2020 г.						
Сорт (A)	2,4	17,6	2,0	1,2	4,8	0,01
Штамм (B)	0,5	3,8	5,0	0,1	0,4	0,84
A*B (Сорт*Штамм)	1,7	12,4	10,0	0,2	0,7	0,74
остаток	9,0	66,3	36,0	0,2		
2021 г.						
Сорт (A)	4,1	31,3	2,0	2,1	19,7	0,00
Штамм (B)	1,1	8,5	6,0	0,2	1,8	0,12
A*B (Сорт*Штамм)	3,5	26,7	12,0	0,3	2,8	0,01
остаток	4,4	33,4	42,0	0,1		

В 2021 году дополнительно выявлено статистически значимое влияние взаимодействия факторов Сорт и Штамм, его вклад в формирование урожайности составил 26,7 %.

Влияние биологических препаратов на урожайность и ее компоненты объясняется комплексом физиологических и микробиологических эффектов: усилением азотфиксирующей способности, солюбилизации фосфатов, мобилизации калия, продукцией фитогормонов. Эти процессы усиливают микробиологическую активность почвы и тем самым повышают доступность питательных элементов для растений [155]. Косвенно способствовать увеличению продуктивности может антагонистическая активность микроорганизмов, которые служат основой для биопрепаратов [5].

Интегральным показателем активности формирования и функционирования системы «микроорганизмы – *T. aestivum*» является урожайность. По данным трехлетних исследований мы получили следующие

результаты. В таблице 17 представленные данные свидетельствуют о том, что в благоприятных погодных условиях 2019 года сорт Ермак был отзывчив на инокуляцию всеми штаммами, наибольшая прибавка выявлена при применении штамма L1, превышение контрольного варианта составило 0,63 т/га (13 %). В этом варианте инокуляции на сорте Багира достоверное увеличение к контролю – 0,4 т/га (8 %), на сорте Лидия – на 0,21 т/га (4 %) [12]. Сорт Багира отличается высокой пластичностью. Он восприимчив к инокуляции ассоциативными штаммами даже при недостатке влаги и повышенной температуре.

Таблица 17 – Влияние штаммов с высоким ассоциативным потенциалом на урожайность пшеницы озимой (полевой опыт, 2019-2021 гг.)

Сорт (фактор А)	Штамм (фактор В)	Урожайность т/га по вариантам инокуляции штаммами				Прибавка урожайности	
		2019	2020	2021	среднее	т/га	%
Ермак	P4	*5,45	2,98	4,27	4,23	-	-
	M3	*5,43	3,08	3,85	4,12	-	-
	B5	*5,15	2,88	*5,06	4,36	-	-
	R1	*5,24	2,64	4,64	4,17	-	-
	L1	*5,53	3,15	*4,99	4,56	0,23	5
	C	4,90	3,51	4,58	4,33	-	-
Багира	P4	4,91	3,12	*4,33	4,12	0,13	3
	M3	5,09	*3,47	*4,18	4,25	0,26	7
	B5	*5,17	*3,65	*4,27	4,36	0,37	10
	R1	5,11	3,19	3,94	4,08	0,09	2
	L1	*5,41	2,92	3,64	3,99	-	-
	C	5,01	3,00	3,96	3,99	-	-
Лидия	P4	5,12	3,52	4,20	4,28	0,13	3
	M3	5,11	3,25	4,08	4,15	-	-
	B5	5,14	3,25	4,08	4,16	-	-
	R1	5,17	3,32	3,76	4,08	-	-
	L1	*5,29	3,50	4,19	4,33	0,18	4
	C	5,08	3,42	3,95	4,15	-	-
Фактор А		0,06	0,24	0,20			
Фактор В		0,11	0,37	0,27			
НСР 05		0,15	0,65	0,53			
Примечание: * – статистическая значимость различий ($p < 0,05$) относительно контроля; P4 – <i>Ps. fluorescens</i> , M3 и L1 – <i>P. nitroguajacolicus</i> , B5 – <i>B. wiedmanni</i> , R1 – <i>A. tumefaciens</i> , C – контроль без обработки семян.							

В условиях 2020 года предпосевная инокуляция семян пшеницы сорта Багира штаммами M3 и B5 способствовало увеличению урожайности на 15,7 % и 21,7 % соответственно по сравнению с контрольным вариантом (3,0 т/га). В

2020 и 2021 году на сорте Лидия не выявлено статистически значимого увеличения урожайности, наблюдались только тенденции в некоторых вариантах. Сорта Ермак и Багира в условиях 2021 года проявили отзывчивость на инокуляцию штаммом В5, урожайность составила 5,06 т/га и 4,27 т/га (увеличение к контролю на 10,5 % и 7,8 % соответственно). На сорте Ермак наибольшее увеличение урожайности выявлено в варианте применения штамма L1, которое составило 4,56 т/га, что на 9,0 % выше контроля, на сорте Багира инокуляция штаммом Р4 обеспечила значимое увеличение урожайности на 9,3 % к контролю. Также выявлено положительное влияние на продуктивность в варианте М3, показатель урожайности составил 4,18 т/га относительно контроля (3,96 т/га). Максимальный прирост зерновой продуктивности в среднем за три года выявлен у сорта Багира при предпосевной инокуляции семян штаммом В5 и составил 0,4 т/га (10 %) относительно контроля (3,99 т/га).

Корреляционный анализ данных численности эколого-трофических групп микроорганизмов и урожайности по трем сортам озимой пшеницы показал, что наибольшее взаимовлияние выявлено между численностью бактерий рода *Azotobacter* и урожайностью ($r = 0,76$, $p < 0,05$). (рисунок 42).

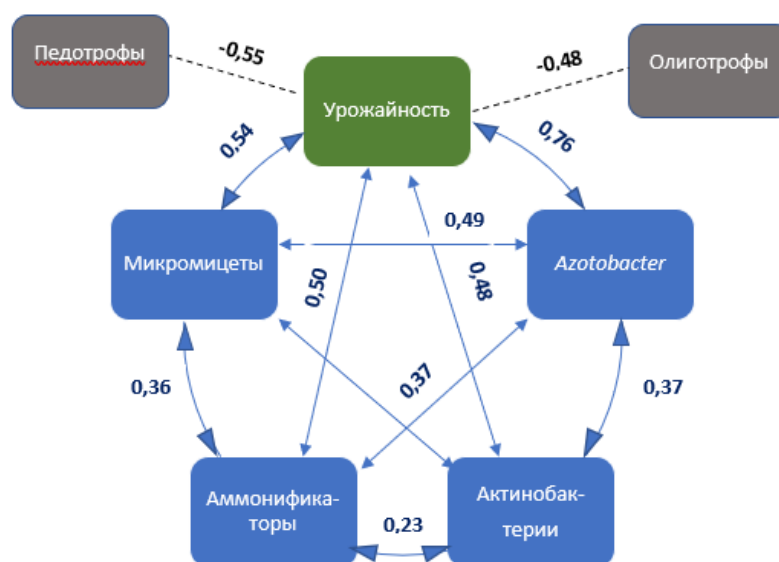


Рисунок 42 – Корреляционная плеяда зависимости (значимые на уровне $P < 0,05$) урожайности и численности эколого-трофических групп микроорганизмов ризосферы трех сортов пшеницы озимой (полевой опыт, 2018–2020 гг.)

Как отмечают исследователи, представители рода *Azotobacter* служат важным показателем почвенного плодородия и способствуют повышению урожайности [199; 217]. Их экологическая и агрономическая значимость определяется многофункциональностью: помимо фиксации атмосферного азота, эти микроорганизмы продуцируют фитостимуляторы и антимикробные соединения, а также влияют на доступность элементов питания для растений [125]. Отрицательная корреляционная связь средней силы установлена с автохтонной группой микроорганизмов, способных развиваться в почве с низким содержанием доступных питательных веществ и составляющих группу основных утилизаторов органического вещества на заключительной стадии его превращения.

Изучение влияния интродукции ассоциативных штаммов в ризосферу озимой пшеницы на структуру взаимосвязей показало, что инокуляция штаммом *B. wiedmanni* В5 существенно изменила распределение ранговых коэффициентов корреляции Спирмена (рисунок 43).

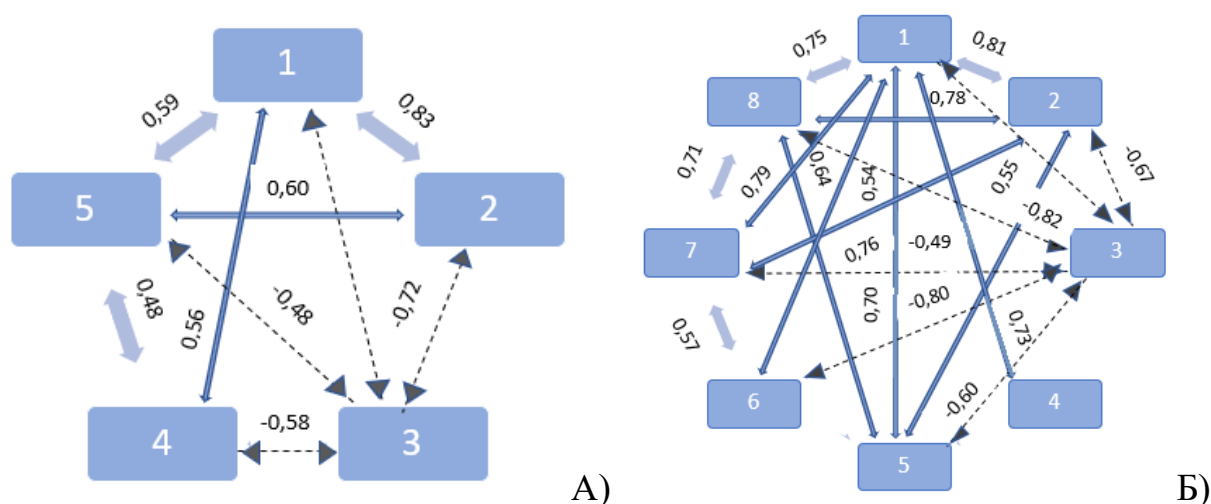


Рисунок 43 – Корреляционная плеяда зависимости урожайности и

численности эколого-трофических групп микроорганизмов ризосферы пшеницы озимой трех сортов в вариантах С – контроль) (А) и В5 – *B. wiedmanni* (Б). 1 – Урожайность, 2 – *Azotobacter*, 3 – Олиготрофы, 4 – Актиномицеты, 5 – Аммонификаторы, 6 – Амилолитики, 7 – Микромицеты, 8 – Целлюлозолитики

В варианте с инокуляцией выявлены достоверные ранговые корреляции между большинством показателей численности эколого-трофических групп микроорганизмов и урожайностью. В контрольном варианте отмечалась сильная корреляционная связь численности бактерий рода *Azotobacter* с урожайностью, а также средние по силе связи между урожайностью и численностью аммонификаторов и актиномицетов. В результате применения штамма В5 установлены значимые положительные корреляционные нагрузки между урожайностью и большинством исследованных эколого-трофических групп микроорганизмов. Достоверная отрицательная корреляционная связь наблюдалась между численностью олиготрофных микроорганизмов и урожайностью, которая ослабевала в результате инокуляции штаммом *B. wiedmanni* В5. Эти факты свидетельствует о том, что интродукция штаммов ассоциативных микроорганизмов в ризосферу пшеницы озимой способствует формированию и усилению функциональной взаимосвязи в системе «микроорганизмы – *T. aestivum*».

Таким образом наши исследования показали, что штаммы ассоциативных микроорганизмов способны влиять на урожайность, как интегральный показатель активности формирования и функционирования системы «микроорганизмы – *T. aestivum*».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Установлены различия в численности микроорганизмов основных эколого-трофических групп и таксономического состава микробиома черноземов южного и обыкновенного ризосферы пшеницы озимой. Выявленные различия находились в зависимости от реакции сорта на почвенно-климатические условия выращивания культуры. Условия чернозема южного степной зоны Крыма способствовали лучшему развитию азотфиксаторов ризосферы сорта Ермак, где общая их численность в 2,7 и 2,4 раза превышала показатели предгорной зоны и чернозема обыкновенного.

2. Сравнительный анализ микробиомов ризосферы озимой пшеницы показал достоверные различия по численности эколого-трофических групп и таксономической структуре в черноземах южном и обыкновенном, эти различия коррелировали с сортовой реакцией на сложившиеся почвенно-климатические условия.

3. Впервые выделены с апикальной части корней *T. aestivum* ассоциативные штаммы бактерий, наиболее эффективные и перспективные для дальнейшей биотехнологии ризосферы агроценозов пшеницы и идентифицированы как *Bacillus wiedmannii*, *Paenarthrobacter nitroguajacolicus*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Pseudomonas fluorescens*. У штаммов *B. wiedmannii* В5 и *A. tumefaciens* R1 выявлено по 4 группы генов, отвечающих за синтез ауксинов, у *P. nitroguajacolicus* L1 и М3 – по 9 и 7, соответственно.

4. Показано, что формирование системы «микроорганизмы – озимая пшеница» под влиянием интродуцированных штаммов зависит от почвенного микробоценоза. В условиях вегетационного опыта чернозем обыкновенный обеспечил положительное влияние большинства штаммов на развитие растений пшеницы сортов Багира и Лидия, что обусловлено их ростстимулирующими свойствами.

5. Выявлено, что под влиянием инокуляции ассоциативными штаммами бактерий происходят изменения численности микроорганизмов

различных экологотрофических групп в ризосфере *T. aestivum* чернозема южного. Установлено, что инокуляция микробными биоагентами способствует изменению направленности минерализационных процессов в ризосфере пшеницы озимой в зависимости от сорта и условий года.

6. Определена устойчивая к погодным условиям сформированная продуктивная система «микроорганизмы – озимая пшеница» на сорте Багира в условиях чернозема южного степной зоны Крыма. Штамм *B. wiedmannii* B5, выделенный с ризосферы этого сорта как ассоциативный, обеспечил прибавку урожайности в среднем за три года исследований 0,37 т/га или 10 % по сравнению с контролем. В благоприятных погодных условиях для пшеницы озимой ростстимулирующие штаммы обеспечивают эффективное взаимодействие не зависимо от сорта.

7. Выявлено, что предпосевная инокуляция ассоциативными штаммами способствует изменению агрохимических показателей чернозема южного, как показал дисперсионный анализ, зависящее, в первую очередь, от условий года. В условиях 2019 года определено увеличение содержания нитратного азота в ризосфере сортов Багира, Ермак и Лидия в вариантах применения штаммов L1 и B5 от 20,4 до 61,2 % относительно контроля. На сорте Ермак, в условиях 2020 года во всех вариантах применения штаммов увеличивалось содержание нитратного азота (от тенденции до 25,0%), подвижного калия (6,3 – 20,9%) и гумуса (31,5 – 37,8%).

8. Установлен вклад факторов в функционирование продуктивной системы «микроорганизмы – озимая пшеница», который зависел от условий года. В 2019 году доминирующим фактором являлся Штамм (43,2 %), вклад взаимодействия Сорт и Штамм составил 27,6 %, фактора Сорт – 16,2 %. В условиях засухи 2020 года статистически значимым фактором выявлен Сорт (17,6 %). В условиях 2021 года продуктивность пшеницы детерминирована фактором Сорт на 31,3 % и взаимодействием факторов Сорт*Штамм на 26,7 %.

9. Показано, что интродукция штаммов с высоким ассоциативным потенциалом к озимой пшенице способствует формированию и усилению

функциональной взаимосвязи в системе «микроорганизмы – *T. aestivum*» и является эффективным биологическим приемом для экологически ориентированного земледелия и управления продуктивностью агроэкосистем в условиях чернозема южного степной зоны Крыма.

РЕКОМЕНДАЦИИ ПРОИЗВОДСТВУ

Результаты исследования рекомендуется использовать в микробных биотехнологиях и практике сельского хозяйства при совершенствовании экологически ориентированных технологий возделывания озимой пшеницы.

Рекомендуется использовать штаммы бактерий *Ps. fluorescens* P4, *P. nitroguajacolicus* M3 и L1, *B. wiedmanni* B5, *A. tumefaciens* R1 как биоресурс при создании новых микробиологических препаратов с ростстимулирующей активностью для пшеницы озимой.

Как прием повышения урожайности в условиях чернозема южного степной зоны Крыма рекомендуется предпосевная инокуляция семян озимой пшеницы штаммом *B. wiedmannii* B5.

В условиях недостаточного увлажнения применение микробных инокулянтов целесообразно сочетать с подбором адаптированных к засухе сортов и комплексом агротехнических мероприятий, направленных на сохранение продуктивной влаги.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Тема имеет перспективы дальнейшего развития в области как фундаментальных, так и прикладных исследований.

Углубить фундаментальные знания о биотехнологическом потенциале исследуемых штаммов: исследовать агрохимические эффекты, антагонизм, энтомопатогенная активность, установить количественный и качественный состав биологически активных веществ фитогормональной природы.

В прикладном аспекте перспективными являются разработка питательных сред и оптимизация параметров культивирования штаммов, ставших частью Крымской коллекции микроорганизмов (<https://ckp-rf.ru/catalog/usu/507484/>). Конечной целью выступает создание многофункционального микробиологического препарата и формирование комплекта научно-технической документации, регламентирующей его применение.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ГТК – гидротермический коэффициент Селининова

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

КОЕ – колониеобразующие единицы

ОТЕ – операционная таксономическая единица

п.н. – пар нуклеотидов

ПЦР – полимеразная цепная реакция

рРНК – рибосомная рибонуклеиновая кислота

CDS – кодирующие последовательности ДНК

NA – неатрибутированные таксоны

NGS – next-generation sequencing (технологии массового параллельного секвенирования)

Other – другие последовательности

PGPR – plant growth promoting rhizobacteria (стимулирующие рост растений бактерии)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдусаламова, Р. Р. Деградация почв и ее последствия / Р. Р. Абдусаламова, З. М. Баламирзоева // Вестник социально-педагогического института. – 2022. – №. 2 (42). – С. 31–36.
2. Аленькина, С. А. Стимулирующий эффект лектинов ассоциативных бактерий рода *Azospirillum* на всхожесть и морфометрические характеристики проростков яровой пшеницы при смоделированных абиотических стрессах / С. А. Аленькина, В. Е. Никитина // Физиология растений. – 2021. – Т. 68, № 2. – С. 170–176.
3. Анализ показателей почвенного микробиома в процессах, связанных с почвообразованием, трансформацией органического вещества и тонкой регуляции вегетационных процессов / Е. Е. Андронов, Е. А. Иванова, Е. В. Першина [и др.] // Бюллетень Почвенного института им. В.В. Докучаева. – 2015. – Вып. 80. – С. 83–94.
4. Андронов, Е. Е. Выделение ДНК из образцов почвы / Е. Е. Андронов, А. Г. Пинаев, Е. В. Першина – Санкт-Петербург: ПК «Объединение Вента», 2011. – 27 с.
5. Артамонова, М. Н. Скрининг высокоадгезивных штаммов *Bacillus subtilis* как потенциальной основы биопрепаратов для повышения продуктивности сельскохозяйственных растений / М. Н. Артамонова, Н. И. Потатуркина-Нестерова // Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии. – 2019. – С. 188–189.
6. Анализ ресурсного потенциала земель Ставропольского края для возделывания плодовых культур / И. А. Драгавцева, И. Ю. Савин, С. В. Овечкин [и др.] – Москва: ФГНУ «Росинформагротех», 2007. – 192 с.
7. Ассоциативные бактерии к *Triticum aestivum* L. черноземов южного и обыкновенного / Т. Н. Мельничук, А. Ю. Еговцева, С. Ф. Абдурашитов [и др.] // Таврический вестник аграрной науки. – 2018. – №. 4. – С. 88–101.

8. Ассоциативные микроорганизмы растений: выделение штаммов и их изучение. / Под редакцией Т. Н. Мельничук, Н. К. Шерстобоев, А. И. Якубовская [и др.] – Симферополь: Издательство «Ариал», 2021. –180 с.
9. Влияние агрохимических мероприятий на урожайность и накопление тяжелых металлов в зерновых культурах / Д. Н. Курбаков, В. К. Кузнецов, А. В. Панов // Проблемы устойчивого развития и эколого-экономической безопасности регионов. – 2020. – С. 11–15.
10. Влияние ассоциативных бактерий на микробные сообщества чернозема южного ризосферы *Triticum aestivum* / Т. Н. Мельничук, С. Ф. Абдурашитов, А. Ю. Еговцева [и др.] // Почвы - стратегический ресурс России : Тезисы докладов VIII съезда Общества почвоведов им. В.В. Докучаева и Школы молодых ученых по морфологии и классификации почв, Сыктывкар, 22 апреля – 08 2021 года / Отв. редакторы С.А. Шоба, И.Ю. Савин. Том Часть 3. – Москва-Сыктывкар: Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, 2021. – С. 712–713.
11. Влияние ассоциативных микроорганизмов на рост и устойчивость растений к ксенобиотикам и фитопатогенам / С. В. Пиголева, Н. С. Захарченко, О. В. Фурс [и др.] // Прикладная биохимия и микробиология. – 2020. – Т. 56, №. 4. – С. 390–400.
12. Влияние ассоциативных ризобактерий на формирование урожайности мягкой пшеницы в условиях чернозема южного / А. Ю. Еговцева, И. А. Каменева, Л. А. Радченко [и др.] // Труды КубГАУ – №123. – 2025. – С.38–45.
13. Влияние ауксинпродуцирующих и фосфатмобилизующих бактерий на подвижность почвенного фосфора, скорость роста растений пшеницы и усвоение ими фосфора / Г. Р. Кудоярова, Л. Б. Высоцкая, Т. Н. Архипова [и др.] // Агрохимия. – 2016. – №. 5. – С. 28–34.
14. Влияние загрязнения тяжелыми металлами на общую численность бактерий в почвах Центрального Предкавказья и Кавказа / Д. И. Мощенко, А. А. Кузина, С. Колесников [и др.] // АгроЭкоИнфо. – 2022. – №. 4. – С. 1–12.

15. Влияние корневой экссудации сахаров на развитие фузариоза у растений пшеницы и ячменя / А. И. Шапошников, О. К. Струнникова, Н. М. Макарова [и др.] // Биомика. – 2018. – Т. 10, №. 1. – С. 20–23.
16. Влияние ризобактерий на продуктивность яровой твердой пшеницы / А. А. Беляева, О. В. Ткаченко, Г. Л. Бурыгин [и др.] // Вавиловские чтения – 2019. – 2019. – С. 15–16.
17. Влияние штаммов, ассоциативных с *Triticum aestivum* L., на микробоценоз чернозема южного ризосферы пшеницы / А. Ю. Еговцева, Т. Н. Мельничук, С. Ф. Абдурашитов [и др.] // Таврический вестник аграрной науки. – 2020. – №. 4. – С. 49–61.
18. Волуевич, Е. А. Плейотропные эффекты генов устойчивости мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) к биотрофным грибным патогенам / Е. А. Волуевич // Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия биологических наук. – 2016. – №. 2. – С. 115–125.
19. Воробьев, Н. И. Методические рекомендации по использованию граф-анализа в исследованиях систем, состоящих из биотических и абиотических компонентов / Н. И. Воробьев, О. В. Свиридова, Р. С. Кутузова. – С.-Петербург: ГНУ ВНИИСХМ, 2006. – 58 с.
20. Выделение и изучение штаммов фосфатмобилизирующих микроорганизмов, перспективных для создания биоудобрения / Н. К. Жаппар, В. М. Шайхутдинов, Б. М. Мырзабаев [и др.] // Fundamental and Experimental Biology. – 2020. – Т. 99, №. 3. – С. 36–42.
21. Гармашов, В. М. Изменение численности азотобактера (*Azotobacter*) в черноземе обыкновенном, используемом в сельскохозяйственном производстве в условиях юго-востока ЦЧР / В. М. Гармашов, Л. В. Гармашова // Итоги и перспективы развития агропромышленного комплекса. – 2020. – С. 361.
22. Гатаева, М. С. Влияние экологических факторов на уровень заболеваемости населения / М. С. Гатаева, М. И. Лечиева, А. В. Басиева //

Рациональное природопользование-основа устойчивого развития. – 2020. – С. 207–210.

23. Генное досье микробиома / Е. В. Першина, Е. Е. Андронов, Г. Г. Самосоров [и др.] // Наука из первых рук. – 2013. – №1. – С.70–76.

24. Геномная характеристика ассоциативного с пшеницей озимой штамма *Agrobacterium tumefaciens* R1 / С. Ф. Абдурашитов, Т. Н. Мельничук, Е. Р. Чирак [и др.] // Экобиотех 2019. – 2019. – С. 9–10.

25. Горовцов, А. В. Микроорганизмы ризосферы сельскохозяйственных растений и их влияние на растения / А. В. Горовцов // Актуальные вопросы развития отраслей сельского хозяйства: теория и практика. – 2019. – С. 181–189.

26. ГОСТ 26205-91. Почвы. Определение подвижных соединений фосфора и калия по методу Мачигина в модификации ЦИНАО. – М. Комитет стандартизации и метрологии СССР. – Изд-во стандартов. – 1992. – 10 с.

27. ГОСТ 26213-91. Почвы. Методы определения органического вещества. – М. Комитет стандартизации и метрологии СССР. – Изд-во стандартов. – 1992. – 8 с.

28. ГОСТ 26423-85. Почвы. Методы определения удельной электрической проводимости, рН и плотного остатка водной вытяжки. – М. Стандартиформ. – периздан. 2011. – 8 с.

29. ГОСТ 26951-86. Почвы. Определение нитратов ионометрическим методом. – М. Государственный комитет СССР по стандартам. – Изд-во стандартов. – 1986. – 10 с.

30. ГОСТ 29269-91. Почвы. Общие требования к проведению анализов. – 2005. – 4 с.

31. Дорогина, О. В. Молекулярно-генетические методы в экологии растений / О. В. Дорогина, Е. В. Жмудь // Сибирский экологический журнал. – 2020. – Т. 4. – С. 416–432.

32. Доспехов, Б. А. Методика полевого опыта с основами статистической обработки результатов исследований / Б. А. Доспехов. – Москва: Агропроиздат, 1985. – 351с.

33. Еговцева, А. Ю. Ассоциативный штамм *Bacillus wiedmannii* как биоресурс для устойчивых агротехнологий / А. Ю. Еговцева, А. А. Зубоченко, В. С. Паштецкий // Современное состояние, проблемы и перспективы развития аграрной науки: материалы XI международной научной конференции [Электронный ресурс] / науч. ред. В. С. Паштецкий. – Электрон. дан. – Симферополь: ИТ «АРИАЛ», 2026. С. 56.

34. Еговцева, А. Ю. Оценка степени ассоциативности штаммов микроорганизмов / А. Ю. Еговцева, Э. Р. Абдурашитова, Т. Н. Мельничук // Растения и микроорганизмы: биотехнология будущего: Сборник тезисов докладов PLAMIC2022, Санкт-Петербург, 03–08 октября 2022 года. – Санкт-Петербург: Автономная некоммерческая организация содействия научному развитию «Растения и Центр поддержки академических инициатив», 2022. – С. 88

35. Еговцева, А. Ю. Структура микробного сообщества чернозема южного ризосферы пшеницы озимой в условиях применения ассоциативных штаммов / А. Ю. Еговцева, Т. Н. Мельничук, С. Ф. Абдурашитов // Молекулярно-генетические и клеточные аспекты растительно-микробных взаимодействий: V Всероссийская школа-конференция с международным участием для молодых ученых, Санкт-Петербург, 06–08 октября 2021 года. – Санкт-Петербург: М.: Издательство «Перо», 2021 – 5,9 Мб. [Электронное издание], 2021. – С. 53.

36. Емельянова, А. А. Роль бактерий рода *Bacillus* в черноземных почвах южного урала как продуцентов гумуса и регуляторов фитопатогенной микрофлоры / А. А. Емельянова, А. А. Пустовалова, О. К. Давыдова // Проблемы экологии южного урала. – 2021. – С. 192–195.

37. Енкина, О. В. Микробиологическая активность почвенного профиля при осеннем внесении минеральных удобрений / О. В. Енкина // Материалы симпозиума «Биодинамика почв». – 1979. – С. 131–135.
38. Ерегина, С. В. Потенциал использования микроорганизмов рода *Bacillus* в растениеводстве / С. В. Ерегина, М. М. Кузнецова // Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета. – 2024. – №. 3 (77). – С. 19–35.
39. Еремин, Д. И. Агроэкологическая характеристика микромицетов, обитающих в почве / Д. И. Еремин, О. Н. Попова // Вестник государственного аграрного университета Северного Зауралья. – 2016. – №. 1. – С. 12–18.
40. Завалин, А. А. Влияние азотных удобрений и Ризоагрина на урожайность яровой пшеницы на дерново-подзолистых почвах / А. А. Завалин, А. А. Алферов // Агрохимический вестник. – 2016. – №. 1. – С. 39–42.
41. Завалин, А. А. Потоки азота в агроэкосистеме: от идей Д.Н. Прянишникова до наших дней / А. А. Завалин, О. А. Соколов – Москва: ВНИИА, 2016 – 591 с.
42. Завьялова, Н. Е. Микробная биомасса, дыхательная активность и азотфиксация в дерново-подзолистой почве предуралья при различном сельскохозяйственном использовании / Н. Е. Завьялова, М. Т. Васбиева, Д. С. Фомин // Почвоведение. – 2020 г. – № 3. – С. 372–378.
43. Иванов, Р. Г. Влияние биомодифицированных азотных удобрений на урожайность и динамику доступного азота в почве под посевами гречихи / Р. Г. Иванов, А. Н. Налиухин // Международный научно-исследовательский журнал. – 2025. – №. 3 (153). – С. 2.
44. Иващенко, В. Г. Интенсификация растениеводства и эколого-продукционный баланс агроэкосистем: снижение плодородия почв и фитосанитарная дестабилизация / В. Г. Иващенко, В. А. Павлюшин // Вестник защиты растений. – 2017. – №. 3. – С. 93.

45. Изменение биологического состояния дерново-карбонатных почв степного Крыма при химическом загрязнении / С. И. Колесников, А. А. Кузина, Е. О. Богдан [и др.] // Экосистемы. – 2019. – №. 17 (47). – С. 87–94.

46. Изменения в микробоценозе ризосферы *Triticum aestivum* L. под влиянием условий выращивания / Т. Н. Мельничук, А. Ю. Еговцева, С. Ф. Абдурашитов [и др.] // Современное состояние, проблемы и перспективы развития аграрной науки: материалы III международной научной конференции – 2018. – С. 42.

47. Изучение и идентификация почвенных эталонов и редких почв с целью мониторинга и охраны почвенных ресурсов в равнинном Крыму // Е. И. Ергина, Р. В. Горбунов, Г. Е. Тронза [и др.] – Симферополь: ИТ «Ариал», 2017. – 136 с.

48. Изучение способности ризосферных микроорганизмов к продукции ИУК и влиянию на рост растений / Д. М. Юсупова, Б. Ш. Бареева, А. Р. Гальперина [и др.] // Инновации и продовольственная безопасность. – 2023. – №. 3. – С. 83–90.

49. Изучение фосфатмобилизующей способности штаммов *Agrobacterium radiobacter* 10 и *Pseudomonas chlororaphis* ПГ7 in vitro / С. В. Железняков, Т. В. Калинина, В. К. Деева [и др.] // Сельскохозяйственная биология. – 2022. – Т. 57, №. 1. – С. 158–170.

50. Казеев, К. Ш. Использование интегрального показателя для оценки пространственной дифференциации биологических свойств почв юга России в градиенте аридности климата / К. Ш. Казеев, Ю. С. Козунь, С. И. Колесников // Сибирский экологический журнал. – 2015. – Т. 22. – С. 112–120.

51. Кириченко, Е. Эффективность бактеризации семян пшеницы яровой новым штаммом *Azotobacter chroococcum* T79 / Е. Кириченко, Л. Титова, С. Коць // Stiintaagricola. – 2017. – №. 1. – С. 21–24.

52. Колесников, Л. Е. Биологическая эффективность штаммов ассоциативных ризобактерий в посевах мягкой пшеницы / Л. Е. Колесников,

А. А. Белимов, П. М. Донес // Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета. – 2019. – №. 1 (54). – С. 57–64.

53. Колесников, Л. Е. Влияние ассоциативных ризобактерий на формирование продуктивности мягкой пшеницы в условиях Ленинградской области / Л. Е. Колесников, Х. Б. А. Хассан, А. А. Белимов // Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета. – 2024. – №. 3 (77). – С. 45–59.

54. Корреляционные взаимосвязи в системе «Ассоциативные микроорганизмы – *Triticum aestivum* L.» / А. Ю. Еговцева, И. А. Каменева, А. И. Якубовская, В. С. Паштецкий // Проблемы агрохимии и экологии. – 2026. – № 3. – С. 55–62.

55. Коробской, Н. Ф. Черноземы Западного Предкавказья. Экологические проблемы и пути их решения (учебное пособие) / Н. Ф. Коробской. – Краснодар: Издательство КубГАУ, 2003. – 382 с.

56. Круглов, Ю. В. Микробное сообщество почвы: физиологическое разнообразие и методы исследования / Ю. В. Круглов // Сельскохозяйственная биология. – 2016. – Т. 51, № 1. – С. 46–59.

57. Максимов, С. А. Оценка взаимодействия диазотрофов и сельскохозяйственных растений при обосновании комплексных мелиораций / С. А. Максимов, Е. Б. Стрельбицкая, И. А. Ремез // Мелиорация и водное хозяйство. – 2025. – №. 2. – С. 14–20.

58. Мамеева, В. Е. Оценка степени антропогенного воздействия на агроценозы с помощью биоиндикации / В. Е. Мамеева // Приемы повышения плодородия почв и эффективности удобрения. – 2019. – С. 92–93.

59. Медведев, И. Ф. Тяжелые металлы в экосистемах: монография / И. Ф. Медведев, С. С. Деревягин. – Саратов: «Ракурс», 2017. – 178 с.

60. Менькина, Е. А. Изменение агрохимических и микробиологических свойств чернозема обыкновенного при разных технологиях возделывания озимой пшеницы / Е. А. Менькина, А. А. Воропаева // Сельскохозяйственный журнал. – 2018. – Т. 1, №. 11. – С.35–42.

61. Менькина, Е. А. Сезонная динамика биологической активности в агро- и биогенных почвах Ставропольского края / Е. А. Менькина, М. Куприченко // Таврический вестник аграрной науки. – 2018. – № 2(14). – С. 64–75.
62. Метагеномная характеристика ризосферного эффекта при выращивании злаковых культур в черноземной и дерново-подзолистой почв / А. О. Зверев, Е. В. Першина, Н. А. Проворов [и др.] // Сельскохозяйственная биология. – 2016. – Т. 51, №. 5. – С. 654–663.
63. Метагеномные и метатранскриптомные исследования патоккомплексов растений / Ю. В. Гоголев, М. А. Сайганова, М. Д. Бойцова [и др.] // Сборник тезисов IV он-лайн школы-конференции для молодых ученых «Молекулярногенетические и клеточные аспекты растительно-микробных взаимодействий». – Санкт-Петербург, 2020. – С. 6.
64. Методические указания «Анализ экспериментальных данных НИР» [Электрон.ресурс] / Дидович С. В., Бараташвили З. А. – Электрон. дан. - Симферополь: ИТ «АРИАЛ», 2025.
65. Методология микробиологических исследований почвы в рамках проекта «Микробиом России» / Т. И. Чернов, В. А. Холодов, Б. М. Когут [и др.] // Бюллетень Почвенного института им. В.В. Докучаева. – 2017. – №. 87. – С. 100–113.
66. Механизмы формирования и контроля растениями ризосферной микробиоты: современные представления о взаимодействии в системе растение–микроорганизм / М. С. Мазанко, Е. В. Празднова, Ф. Ф. Амирджанов [и др.] // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. – 2025. – №. 4 (228). – С. 132–149.
67. Микробоценоз чернозема южного ризосферы *Triticum aestivum* L. / Т. Н. Мельничук, А. Ю. Еговцева, С. Ф. Абдурашитов [и др.] // Современное состояние черноземов: материалы II Международной научной конференции. – 2018. – Т. 1. – С. 432–438.

68. Морозова, Т. С. Агроэкологическая оценка фитотоксичности почв естественных ценозов и агроценоза / Т. С. Морозова, А. В. Ширяев, Т. А. Тимофеев // Инновации в АПК: проблемы и перспективы. – 2020. – №. 2. – С. 185–190.
69. Национальный атлас почв Российской Федерации / под ред. С. А. Шобы // М.: Астрель. – 2011. – 632 с.
70. Основные достижения и перспективы почвенной метагеномики / под ред. Е. В. Першина, О. В. Кутовая, Б. М. Когут [и др.] – СПб. Информ-Навигатор, 2017. – 288 с.
71. Основные тенденции в формировании почвенного микробного сообщества в условиях стационарного полевого опыта по данным высокопроизводительного секвенирования библиотек гена 16S-rРНК / В. А. Думова, Е. В. Першина, Я. В. Мерзлякова [и др.] // Сельскохозяйственная биология. – 2013. – №. 5. – С. 85–92.
72. Оценка хитинолитической и антибиотической активности актиномицетов *Streptomyces avidinii* ina 01467 и *Micromonospora aurantiaca* ina 01468 / Г. А. Терегулова, О. Н. Синева, Н. Н. Маркелова [и др.] // Почвоведение. – 2023. – №. 5. – С. 594–602.
73. Оценка экотоксичности наночастиц меди, никеля и цинка по биологическим показателям чернозема / С. И. Колесников, А. Н. Тимошенко, К.Ш. Казеев [и др.] // Почвоведение. – 2019. – № 8. – С. 986–992.
74. Паштецкий, В. С. Научные основы оптимизации агроландшафтов и эффективного аграрного производства Республики Крым / В. С. Паштецкий – Симферополь. – ИТ «Ариал». – 2015. – 276 с.
75. Перспективы использования эндофитных и экстремофильных микроорганизмов в борьбе с фитопатогенами сельскохозяйственных культур (обзор) / Е. Р. Фасхутдинова, Ю. В. Голубцова, О. А. Неверова [и др.] //Аграрная наука Евро-Северо-Востока. – 2023. – Т. 24, №. 5. – С. 720–738.
76. Першина, Е. В. Новые методы анализа динамики почвенного микробиома, изученной с использованием метагеномных технологий /

Е. В. Першина. Автореф... дис. на соиск. уч.ст. канд. биол. наук, - СПб, 2013. – С. 33.

77. Полногеномное секвенирование и сравнительный анализ генов «домашнего хозяйства» и вирулентности у коммерческих штаммов *Bacillus thuringiensis* с энтомоцидным действием / В. И. Сафронова, А. Л. Сазанова, И. Г. Кузнецова [и др.] // Сельскохозяйственная биология: серия биология растений. – 2015. – № 3. – С. 332–338.

78. Половицкий, И. Я. Почвы Крыма и повышение их плодородия // И. Я. Половицкий, П. Г. Гусев. – Симферополь: Таврия. – 1987. – 152 с.

79. Поползухина, Н. А. Агрохимические и биологические свойства ризосферы сои при применении бактеризации семян / Н. А. Поползухина, Н. Н. Шулико, А. А. Киселева // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2024. – №. 7 (208). – С. 31–39.

80. Потенциал биопродукционных ресурсов почвенного покрова: использование и источники возобновления / З. Г. Залибеков, С. А. Мамаев, А. Б. Биарсланов [и др.] // Аридные экосистемы. – 2021. – Т. 27, №. 1 (86). – С. 15–23.

81. Принцип дополнительности геномов в расширении адаптационного потенциала растений / И. А. Тихонович, Е. Е. Андронов, А. Ю. Борисов [и др.] // Генетика. – 2015. – Т. 51, №. 9. – С. 973–973.

82. Проворов, Н. А. Генетические основы эволюции растительномикробного симбиоза / Н. А. Проворов, Н. И. Воробьев – СПб.: Информ-Навигатор. – 2012. – 400 с.

83. Проценко, Е. П. Влияние длительного залежного режима и антропогенной нагрузки на свойства чернозема выщелоченного / Е. П. Проценко, Н. Н. Трутаева, Н. П. Неведров // Инновационная деятельность науки и образования в агропромышленном производстве. – 2019. – С. 94–98.

84. Роль ауксинпродуцирующих бактерий в преодолении стресса растениями пшеницы в условиях обработки гербицидом чисталан /

М. Д. Тимергалин, А. В. Феоктистова, Т. В. Рамеев [и др.] // Агрохимия. – 2020. – №. 11. – С. 35–40.

85. Роль микроорганизмов в экологических функциях почв / Т. Г. Добровольская Д. Г. Звягинцев, И. Ю. Чернов [и др.] // Почвоведение. – 2015. – №. 9. – С. 1087–1087.

86. Система защиты и технологические аспекты производства органического винограда в условиях Южного берега Крыма / Е. П. Странишевская, Я. А. Волков, М. В. Волкова [и др.]// «Магарач». Виноградарство и виноделие. – 2020. – Т. 22, № 4. – С. 336–343

87. Соболева, О. М. Роль ризосферных бактерий в повышении экологизации агроценозов / О. М. Соболева // Достижения науки и техники АПК. – 2018. – Т. 32, №. 5. С. 19–22.

88. Современное состояние и агрофизические свойства постирригационных почв центральной части предгорного Крыма / Е.И. Ергина, М.Л. Новицкий, В.О. Смирнов [и др.] // Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. География. Геология. – 2025. – Т. 11, №. 2. – С. 91–103.

89. Современное состояние проблемы азота в мировом земледелии / А. А. Завалин, Г. Г. Благовещенская, Н. Я. Шмырева [и др.] // Агрохимия. – 2015. – №. 5. – С. 83–95.

90. Состав корневых экзометаболитов мягкой пшеницы и томата, влияющих на растительно-микробные взаимодействия в ризосфере / Л. В. Кравченко, А. И. Шапошников, Н. М. Макарова [и др.] // Физиология растений. – 2011. – Т. 58, №. 5. – С. 781–786.

91. Сравнение полногеномных сиквенсов двух штаммов *Paenarthrobacter nitroguajacolicus* L1 и M3, выделенных из ризосферы *Triticum aestivum* и перспективных в агробиотехнологии / С. Ф. Абдурашитов, Т. Н. Мельничук, Е. Р. Чирак [и др.] // Современное состояние, проблемы и перспективы развития аграрной науки. – 2019. – С. 246–247.

92. Сравнительная оценка содержания бактерий *Azotobacter* в агроценозах Оренбуржья / О. Я. Соколова, М. В. Фомина, Е. А. Михайлова [и др.] // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2020. – №. 1 (81). – С. 24–28.

93. Стрельбицкая, Е. Б. Использование diaзотрофов и биопрепаратов для повышения продуктивности агроценозов / Е. Б. Стрельбицкая // Мелиорация и водное хозяйство. – 2025. – №. 5. – С. 6–13.

94. Структура микробиома чернозема южного ризосферы пшеницы озимой в условиях применения ассоциативных штаммов микроорганизмов / А. Ю. Еговцева, Т. Н. Мельничук, С. Ф. Абдурашитов, Л. А. Радченко // Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада. – 2021. – № 141. – С. 120–129.

95. Таксономическая структура прокариотных сообществ почв разных биоклиматических зон / И. А. Тихонович, Т. И. Чернов, А. Д. Железова [и др.] // Бюллетень Почвенного института им. В.В. Докучаева. – 2018. – № 95. – С.125–153.

96. Темралеева, А. Д. Современные биотехнологии в растениеводстве: достижения и тренды развития / А. Д. Темралеева // *Biologia et Biotechnologia*. – 2024. – №. 1. – С. 3–21.

97. Теппер, Е. З. Практикум по микробиологии / Е. З. Теппер, В. К. Шильникова, Г. И. Переверзева – Москва: Дрофа, 2005. – 254 с.

98. Тимофеев, Т. А. Определение фитотоксичности почв различных ценозов методом биотестирования / Т. А. Тимофеев, К. В. Левакшина, Т. С. Морозова // Материалы Международной студенческой научной конференции «Горинские чтения. Наука молодых-инновационному развитию АПК» (18-19 марта 2019 года). – 2020. – №. 4. – С. 104.

99. Титова, В. И. Методы оценки функционирования микробоценоза почвы, участвующего в трансформации органического вещества / В. И. Титова, А. В. Козлов – Нижний Новгород: Нижегородская с.-х. академия, 2012. – 64 с.

100. Тихонович, И. А. Перспективы использования азотфиксирующих и фитостимулирующих микроорганизмов для повышения эффективности агропромышленного комплекса и улучшения агроэкологической ситуации в РФ / И. А. Тихонович, А. А. Завалин // Плодородие. – 2016. – №. 5 (92). С. 28–32.

101. Тихонович, И. А. Сельскохозяйственная микробиология как основа экологически устойчивого агропроизводства: фундаментальные и прикладные аспекты / И. А. Тихонович, Н. А. Проворов // Сельскохозяйственная биология: серия биология растений. – 2011. – № 3. – С. 3–9.

102. Управление плодородием почв на основе интенсификации биологических факторов в системах земледелия / В. Н. Масалов, Н. А. Березина, В. Т. Лобков [и др.] // Вестник аграрной науки. – 2021. – №. 3 (90). – С. 10–17.

103. Факторы повышения индуцирующей активности двух штаммов *Bacillus subtilis* в защите пшеницы от возбудителей темно-бурой пятнистости (*Bipolaris sorokiniana*) и бурой ржавчины (*Puccinia tritricina*) / И. И. Новикова, Е. В. Попова, Н. М. Коваленко [и др.] // Вестник защиты растений. – 2022. – Т. 105. – №. 3. – С. 122–134.

104. Ферментативная активность некоторых почв Крыма / К. Ш. Казеев, О. Д. Антонова, С. И. Колесников [и др.] // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2014. – №. 104. – С. 1137–1148.

105. Филиппов, Е. Г. Селекция озимого ячменя / Е. Г. Филиппов, А. А. Донцова – Ростов-на-Дону: ЗАО «Книга», 2014. – 208 с.

106. Формирование растительно-микробных систем с подбором сортов *Triticum aestivum* L. в условиях чернозема / Т. Н. Мельничук., С. Ф. Абдурашитов, А. Ю. Еговцева [и др.] // Актуальные проблемы устойчивого развития агроэкосистем (почвенные, экологические, биоценотические аспекты). – 2019. – С. 60–61.

107. Функционирование микробных сообществ почвы в условиях антропогенной нагрузки / К. И. Андриук, Г. О. Иутинська, А. Ф. Антипчук [и др]. – Киев: Обереги, 2001. – 239 с.
108. Чайковская, Л. А. Фосфатмобилизующие микроорганизмы: 1. Биоразнообразие, влияние на минеральное питание растений и их продуктивность / Л. А. Чайковская, О. Л. Овсиенко // Таврический вестник аграрной науки. – 2021. – №. 4. – С. 159–182.
109. Шапошников, А. И. Влияние ризосферных штаммов *Pseudomonas* на количество L-триптофана в корневых экссудатах пшеницы и томата / А. И. Шапошников, Н. М. Макарова, Т. С. Азарова // Основные проблемы сельскохозяйственных наук. – 2016. – С. 20–26.
110. Шерстобоев, Н. К. Методологический подход к изучению ассоциативных микроорганизмов / Н. К. Шерстобоев, Т. Н. Мельничук // Вестник Одесского национального университета. – 2005. – Т. 10, № 7. – С. 311–315.
111. Штаммы бактерий из Биоресурсной коллекции ФГБНУ ФНЦБЗР, обладающие ростстимулирующей активностью в отношении растений озимой пшеницы / А. М. Асатулова, Н. С. Томашевич, В. М. Дубяга [и др.] // Достижения науки и техники АПК. – 2023. – Т. 37, № 5. – С. 21–27.
112. Щербакова, Л. А. Микробные белки элиситоры устойчивости растений к фитопатогенам и их потенциал для экологически ориентированной защиты сельскохозяйственных культур / Л. А. Щербакова, В. Г. Джавахия // Сельскохозяйственная биология. – 2023. – Т. 58, №. 5. – С. 789–820.
113. Экологическая оценка структуры микробиологического комплекса техногенно-трансформированных земель / Л. П. Степанова, Е. В. Яковлева, А. В. Писарева [и др.] // Агрохимический вестник. – 2016. – №. 3. – С. 20–25.
114. Яруллина, Л. Г. Влияние бактерий рода *Bacillus* на активность патогениндуцируемых белков и устойчивость пшеницы к возбудителю твердой головни *Tilletia caries* (DC.) Tull / Л. Г. Яруллина, Г. Ф. Бурханова, В. О. Цветков // Физиология растений. – 2020. – Т. 67, №. 3. – С. 329–336.

115. A review on practical application and potentials of phytohormone-producing plant growth-promoting rhizobacteria for inducing heavy metal tolerance in crops / F. Nazli, A. Mustafa, M. Ahmad [et al.] // Sustainability. – 2020. – Vol. 12. – No. 21. – P. 9056.
116. *Actinomycetes: microbiology to systems biology* / C. Subathra Devi, S. Merlyn Keziah, S. Jemimah Naine [et al.] // Actinobacteria: Microbiology to Synthetic Biology. – Singapore: Springer Nature Singapore, 2022. – P. 1–35.
117. *Agrobacterium tumefaciens* – ассоциативная азотфиксирующая бактерия / Т. М. Фунг, Н. А. Манучарова, А. Л. Степанов [и др.] // Вестн. моск. ун-та. Сер. 17. Почвоведение. – 2015. – № 3. – С. 50–55.
118. Alleviation of salinity stress in wheat by ACC deaminase-producing *Bacillus aryabhattai* EWR29 with multifarious plant growth-promoting attributes / M. G. Farahat, M. K. Mahmoud, S. H. Youseif [et al.] // Plant Arch. – 2020. – Vol. 20. – No. 1. – P. 417–429.
119. A review on microbe–mineral transformations and their impact on plant growth / N. Pradhan, S. Singh, G. Saxena [et al.] // Frontiers in Microbiology. – 2025. – Vol. 16. – P. 1549022.
120. Assessment of soil salinity indexes using electrical conductivity sensors / S. Bañón, S. Álvarez, D. Bañón [et al.] // Scientia Horticulturae. – 2021. – Vol. 285. – P. 110171.
121. Associative growth-stimulating strains of bacteria and their whole genome sequencing / S. F. Abdurashytov, T. N. Melnichuk, E. R. Chirak [et al.] // Вторая Международная научная конференция PLAMIC2020 «Растения и микроорганизмы: биотехнология будущего». – 2020. – P. 5–5.
122. Altomare, C. Beneficial soil microorganisms, an ecological alternative for soil fertility management / C. Altomare, I. Tringovska // Genetics, biofuels and local farming systems. – 2011. – P. 161–214.
123. Associative to *Triticum aestivum* L. bacteria as a source of strains for biotechnology of the rhizosphere / T. Melnichuk, A. Egovtseva, S. Abdurashytov [et

al.] // Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences. – 2019. – Vol. 9. – No. 5. – P. 1194–1197.

124. Ayilara, M. S. Bioremediation of environmental wastes: the role of microorganisms / M. S. Ayilara, O. O. Babalola // Frontiers in Agronomy. – 2023. – Vol. 5. – P. 1183691.

125. *Azotobacter*: a potential bio-fertilizer for soil and plant health management / A. Sumbul, R. A. Ansari, R. Rizvi [et al.] // Saudi Journal of Biological Sciences. – 2020. Vol. 27. № 12. P. 3634–3640.

126. *Bacillus* species in soil as a natural resource for plant health and nutrition / A. K. Saxena, M. Kumar, H. Chakdar [et al.] // Journal of applied microbiology. – 2020. – Vol. 128. – №. 6. – P. 1583–1594.

127. *Bacillus wiedmanni* SAB10, a hidden hero as plant probiotics: assessment of its potential on the growth of *Amaranthus viridis* / S. Sahoo, S. Dash, A. Mandal [et al.] // Vegetos. – 2025. – P. 1–8.

128. *Bacteroidetes* as a sensitive biological indicator of agricultural soil usage revealed by a culture-independent approach / A. Wolińska, A. Kuźniar, U. Zielenkiewicz [et al.] // Applied Soil Ecology. – 2017. – Vol. 119. – P. 128–137.

129. Baldani, J. I. History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: special emphasis on the Brazilian experience/ J. I. Baldani, V. L. D. Baldani // Anais da Academia Brasileira de Ciências. – 2005. – Vol. 77. – No. 3. – P. 549–579.

130. Beneficial bacteria activate nutrients and promote wheat growth under conditions of reduced fertilizer application / J. Wang, R. Li, H. Zhang [et al.] // BMC microbiology. – 2020. – Vol. 20. – No. 1. – P. 38.

131. Biodiversity and Functional Attributes of Rhizospheric Microbiomes: Potential Tools for Sustainable Agriculture/ D. Kour, H. Kour, S. S. Khan [et al.] // Current microbiology. – 2023. – Vol. 80. – No. 6. – P. 192.

132. Bolger, A. M. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data / A. M. Bolger, M. Lohse, B. Usadel // Bioinformatics. – 2014. – Vol. 30. – P. 2114–2120.

133. Carrier-Based Application of Phyto-Benefic and Salt-Tolerant *Bacillus wiedmannii* and *Bacillus paramobilis* for Sustainable Wheat Production Under Salinity Stress / R. Rashid, A. Iqbal, M. Shahzad [et al.] // *Plants*. – 2025. – Vol. 14. – No. 14. – P. 2096.
134. Changes in bacterial community composition during the remediation of Cd-contaminated soils of bioenergy crops / C. Y. Ding, Y. Zheng, X. M. Ren [et al.] // *Acta Sci Circumst.* – 2016. – Vol. 36. – P. 3009–3016.
135. Changes in the taxonomic structure of the microbiome of chernozem southern of the rhizosphere *Triticum aestivum* L. under the influence of associative bacteria strains / T. Melnichuk, A. Egovtseva, S. Abdurashitov [et al.] // Вторая Международная научная конференция PLAMIC2020 «Растения и микроорганизмы: биотехнология будущего». – 2020. – P. 167.
136. Characterization and isolation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase-producing, plant growth-promoting rhizobacteria from the rhizosphere of Egyptian wheat cultivars for improved drought resilience / H. M. Abdelhalim, R. R. Hamed, D. A. M. El Sangry [et al.] // *Brazilian Journal of Biology*. – 2024. – Vol. 84. – P. e285457.
137. Characterization of bacterial community structure in the rhizosphere of *Triticum aestivum* L. / S. Latif, S. Bibi, R. Kouser [et al.] // *Genomics*. – 2020. – Vol. 112. – No. 6. – P. 4760–4768.
138. Chee-Sanford, J. Consumption of N₂O and other N-cycle intermediates by *Gemmatimonas aurantiaca* strain T-27 / J. Chee-Sanford, D. Tian, R. Sanford // *Microbiology*. – 2019. – Vol. 165. – No. 12. – P. 1345–1354.
139. Chemical structure predicts the effect of plant-derived low-molecular weight compounds on soil microbiome structure and pathogen suppression / Y. Gu, X. Wang, T. Yang [et al.] // *Functional Ecology*. – 2020. – Vol. 34. – No. 10. – P. 2158–2169.
140. Chukwuma, C. E. Degradation of catecholate, hydroxamate, and carboxylate model siderophores by extracellular enzymes / C. E. Chukwuma, O. W. Duckworth, O. Baars // *Plos one*. – 2025. – Vol. 20. – No. 8. – P. e0330432.

141. Combined application of biochar and PGPR alleviates Cd stress in wheat by improving antioxidant defense mechanism and crop physiology / Z. Alasmary, M. A. Majrashi, M. A. Aziz [et al.] // International Journal of Phytoremediation. – 2025. – Vol. 27. – No. 14. – P. 2001–2016.
142. Comparative analysis of prokaryotic communities associated with conventional croplands and fallow lands / O. S. Zhurlov, D. A. Grudini, A. A. Mushinskiy [et al.] // European science review. – 2018. – No. 5-6. – P.13–16.
143. Comparative analysis of rhizosphere soil physiochemical characteristics and microbial communities between rusty and healthy ginseng root / X. Bian, S. Xiao, Y. Zhao [et al.] // Scientific Reports. – 2020. – Vol. 10. – No. 1. – P. 15756.
144. Computational methods for strain-level microbial detection in colony and metagenome sequencing data / C. Anyansi, T. J. Straub, A. L. Manson [et al.] // Frontiers in Microbiology. – 2020. – Vol. 11. – P. 1925.
145. Control of nitrogen fixation in bacteria that associate with cereals / M. H. Ryu, J. Zhang, T. Toth [et al.] // Nature microbiology. – 2020. – Vol. 5. – No. 2. – P. 314–330.
146. Coordination between microbiota and root endodermis supports plant mineral nutrient homeostasis / I. Salas-González, G. Reyt, P. Flis [et al.] // Science. – 2021. – Vol. 371. – No. 6525. – P. eabd0695.
147. Cordero Elvia, J. Bacterial microbiomes associated with the rhizosphere, root interior, and aboveground plant organs of wheat and canola at different growth stages / J. Cordero Elvia, J. R. de Freitas, J. J. Germida // Phytobiomes Journal. – 2021. – Vol. 5. – No. 4. – P. 442–451.
148. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data / B. J. Callahan, P. J. McMurdie, M. J. Rosen [et al.] // Nature Methods. – 2016. – Vol.13. – P. 581–583.
149. Dahal, R. H. *Rurimicrobium arvi* gen. nov., sp. nov., a member of the family *Chitinophagaceae* isolated from farmland soil / R. H. Dahal, D. K. Chaudhary, J. Kim // International journal of systematic and evolutionary microbiology. – 2017. – Vol. 67. – No. 12. – P. 5235–5243.

150. David, B. V. *Pseudomonas fluorescens*: a plant-growth-promoting rhizobacterium (PGPR) with potential role in biocontrol of pests of crops / B. V. David, G. Chandrasehar, P. N. Selvam // Crop improvement through microbial biotechnology. – Elsevier, 2018. – P. 221–243.
151. De Bruijn, F. J. Biological nitrogen fixation / F. J. De Bruijn, M. Hungria // Good microbes in medicine, food production, biotechnology, bioremediation, and agriculture. – 2022. – P. 466–475.
152. Defying Salinity, Drought, and pH Extremes: A Multifunctional Rhizobacterium, *Burkholderia gladioli* ST3M-39a, Matches Fertilizer Efficacy in Wheat via Phosphate Solubilization / S. Silwal, A. Shrestha, S. Pokharel [et al.] // bioRxiv. – 2025. – P. 2025.09. 01.673583.
153. Distinct soil microbial diversity under long-term organic and conventional farming / M. Hartmann, B. Frey, J. Mayer [et al.] // ISME J. – 2015. – Vol. 9(5). – P.1177–1194.
154. Diversity and heritability of the maize rhizosphere microbiome under field conditions / J. A. Peiffer, A. Spor, O. Koren [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2013. – Vol. 110. – No. 16. – P. 6548–6553.
155. Effect of *Azotobacter*, phosphate solubilising bacteria and potash mobilising bacteria inoculants on productivity of wheat (*Triticum aestivum* L.) / B. C. Game, B. M. Ilhe, V. S. Pawar [et al.] // Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. – 2020. – Vol. 9. – № 3. – P. 2800–2807.
156. Effect of inoculation of *Azospirillum* spp. on nitrogen accumulation by field-grown wheat / R. M. Boddey, V. L. Baldani, J. I. Baldani [et al.] // Plant and Soil. – 1986. – Vol. 95. – No. 1. – P. 109–121.
157. Effect of the soil type on the microbiome in the rhizosphere of fieldgrown lettuce / S. Schreiter, G. C. Ding, H. Heuer [et al.] // The plant microbiome and its importance for plant and human health. – 2015. – P. 88.
158. Emerging pathways for engineering the rhizosphere microbiome for optimal plant health / S. Yang, H. Liu, P. Xie [et al.] // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2023. – Vol. 71. – No. 11. – P. 4441–4449.

159. Endophytic bacteria (*Sphingomonas* sp. LK11) and gibberellin can improve *Solanum lycopersicum* growth and oxidative stress under salinity / B. A. Halo, A. L. Khan, M. Waqas [et al.] // Journal of Plant Interactions. – 2015. – Vol.10. – No. 1. – P. 117–125.
160. Environmental superbugs: The case study of *Pedobacter* spp / A. T. Viana, T. Caetano, C. Covas [et al.] // Environmental Pollution. – 2018. – Vol. 241. – P. 1048–1055.
161. Evaluation of ACC-deaminase-producing rhizobacteria to alleviate water-stress impacts in wheat (*Triticum aestivum* L.) plants / D. Chandra, R. Srivastava, V. V. Gupta [et al.] // Canadian journal of microbiology. – 2019. – Vol. 65. – №. 5. – P. 387–403.
162. Evolution of bacterial communities in the wheat crop rhizosphere / S. Donn, J. Kirkegaard, G. Perera [et al.] // Environ Microbiol. – 2015. – Vol. 17 (3). – P. 610–621.
163. Examining the global distribution of dominant archaeal populations in soil / S. T. Bates, J. G. Berg-Lyons, W. A. Caporaso [et al.] // ISME J. – 2011. – No. 5. – P. 908–917.
164. Exploring the potential of new *Bacillus subtilis* strain VKM B-3516D against common wheat diseases for sustainable farming system / S. V. Kopiltsov, I. L. Astapchuk, A. V. Elisyutikova [et al.] // Frontiers in Sustainable Food Systems. – 2025. – Vol. 9. – P. 1606079.
165. Exploring waste mica as an alternative potassium source using a novel potassium solubilizing bacterium and rice residue in K deficient Alfisol / K. Rani, D. R. Biswas, B. B. Basak [et al.] // Plant and Soil. – 2025. – Vol. 509. – No. 1. – P. 611–630.
166. *Flavisolibacter rigui* sp. nov., isolated from freshwater of an artificial reservoir and emended description of the genus *Flavisolibacter* / K. S. Baik, M. S. Kim, J. H. Lee [et al.] // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. – 2014. – Vol. 64. – No. Pt_12. – P. 4038–4042.

167. Fungi and bacteria in the dark-humus forest soil / L. M. Polyanskaya, D. D. Yumakov, Z. N. Tyugay [et al.] // Eurasian Soil Science. – 2020. – Vol. 53. – No. 9. – P. 1255–1259.
168. Effects of two *Trichoderma strains* on plant growth, rhizosphere soil nutrients, and fungal community of *Pinus sylvestris* var. *mongolica* annual seedlings / S. Halifu, X. Deng, X. Song [et al.] // Forests. – 2019. – Vol. 10. – No. 9. – P. 758.
169. Hammer, O. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis / O. Hammer, D. A. T. Harper, P. D. Ryan // Palaeontologia Electronica. – 2001. – Vol. 4(1). – 9 p.
170. Hooykaas, P. J. J. The Ti plasmid, driver of *Agrobacterium* pathogenesis / P. J. J. Hooykaas // Phytopathology®. – 2023. – Vol. 113. – No. 4. – P. 594–604.
171. Hryniewicz, K. Density, metabolic activity, and identity of cultivable rhizosphere bacteria on *Salix viminalis* in disturbed arable and landfill soils / K. Hryniewicz, C. Baum, P. Leinweber // Journal of Plant Nutrition and Soil Science. – 2010. – Vol. 173. – No. 5. – P. 747–756.
172. Igiehon, N. O. Rhizosphere microbiome modulators: contributions of nitrogen fixing bacteria towards sustainable agriculture / N. O. Igiehon, O. O. Babalola // International journal of environmental research and public health. – 2018. – Vol. 15. – No. 4. – P. 574.
173. Impact of mineral fertilizers on mineral nutrients in the ginger rhizome and on soil enzymes activities and soil properties / D. Jabborova, R. Z. Sayyed, A. Azimov [et al.] // Saudi J. Biol. Sci. – 2021. – P. 285268–5274.
174. Impact of Soil Warming and Drying on the Decomposition and Accumulation of Organic Matter and Soil Microbiome / I. V. Yevdokimov, M. V. Semenov, S. S. Bykhovets [et al.] // Eurasian Soil Science. – 2025. – Vol. 58. – No. 9. – P. 116.
175. Impacts of *Crenarchaeota* and *Halobacterota* on sulfate reduction in the subtropical mangrove ecosystem as revealed by SMDB analysis / S. Li, J. Mo, B. Li [et al.] // bioRxiv. – 2020. – P. 2020.08. 16.252635.

176. Influence of associative bacterial strains on the structure of the microbiocenosis of the rhizosphere of *Triticum aestivum* L. / T. N. Melnichuk, A. Yu. Egovtseva, S. F. Abdurashytov [et al.] // E3S Web of Conferences. – EDP Sciences, 2020. – Vol. 224. – P. 04002.

177. Influence of plant fraction, soil, and plant species on microbiota: a multikingdom comparison / A. Tkacz, E. Bestion, Z. Bo [et al.] // MBio. – 2020. – Vol. 11. – No. 1. – P. 10.1128/mbio.02785-19.

178. Inoculation of wheat seeds with spore-forming bacteria as a novel approach to enhance growth under climate change-induced stress conditions / S. Aryan, S. Habibi, S. I. Agake [et al.] // Scientific Reports. – 2025. – Vol. 15. – No. 1. – P. 36232.

179. Inorganic nitrogen application affects both taxonomical and predicted functional structure of wheat rhizosphere bacterial communities / V. N. Kavamura, R. Hayat, I. M. Clark [et al.] // Frontiers in microbiology. – 2018. – Vol. 9. – P. 1074.

180. Interspecific plant interaction via root exudates structures the disease suppressiveness of rhizosphere microbiomes / X. Zhou, J. Zhang, M. K. Rahman [et al.] // Molecular Plant. – 2023. – Vol. 16. – No. 5. – P. 849–864.

181. Kotlyarov, V. V. Biologization of growing grain crops technology / V. V. Kotlyarov, D. V. Kotlyarov, D. A. Novikov // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. – IOP Publishing, 2021. – Vol. 843. – No. 1. – P. 012044.

182. Kramer, J. Bacterial siderophores in community and host interactions / J. Kramer, Ö. Özkaya, R. Kümmerli // Nature Reviews Microbiology. – 2020. – Vol. 18. – No. 3. – P. 152–163.

183. Kumar, A. Shifts in plant functional trait dynamics in relation to soil microbiome in modern and wild barley / A. Kumar O. Kuznetsova, S. Gschwendtner // Plants, People, Planet. – 2024. – Vol. 6. – No. 6. – P. 1398–1412.

184. Legacy effects of invasive grass impact soil microbes and native shrub growth / B. Pickett, I. C. Irvine, E. Bullock [et al.] // Invasive Plant Science and Management. – 2019. – Vol. 12. – No. 1. – P. 22–35.

185. Lema, N. K. Recent advances in metagenomic approaches, applications, and challenges / N. K. Lema, M. T. Gameda, A. A. Woldesemayat // *Current Microbiology*. – 2023. – Vol. 80. – No. 11. – P. 347.
186. Ling, N. Rhizosphere bacteriome structure and functions / N. Ling, T. Wang, Y. Kuzyakov // *Nature communications*. – 2022. – Vol. 13. – No. 1. – P. 836.
187. *Linnemannia elongata*: a key species in chitin-based plant growth promotion / C. De Tender, M. Vandecasteele, S. Ommeslag [et al.] // *Phytobiomes Journal*. – 2024. – Vol. 8. – No. 3. – P. 366–377.
188. Locating enzyme activities and nutrients in the rhizosphere: Combining zymography and DET methods / L. Paillat, P. Cannavo, A. Mouret [et al.] // *Soil Biology and Biochemistry*. – 2025. – P. 110039.
189. Low-abundance members of the *Firmicutes* facilitate bioremediation of soil impacted by highly acidic mine drainage from the Malanjkhand copper project, India / A. Gupta, A. Dutta, J. Sarkar [et al.] // *Frontiers in microbiology*. – 2018. – Vol. 9. – P. 2882.
190. Lu, X. Biogeography of soil *Thaumarchaeota* in relation to soil depth and land usage / X. Lu, B. J. Seuradze, J. D. Neufeld // *FEMS microbiology ecology*. – 2017. – Vol. 93. – No. 2. – P. 246.
191. Madras, S. Comparative analysis of aerobic and anaerobic bacterial / S. Madras // *African Journal of Biological Sciences (South Africa)*. – 2022. – Vol. 4. – No. 2. – P. 226–247.
192. Maslovska, O. Oxidative stress and protection against it in bacteria / O. Maslovska, S. Komplikevych, S. Hnatush [et al.] // *Studia Biologica*. – 2023. – Vol. 17. – No. 2. – P. 153–172.
193. McMurdie, P. J. Phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data / P. J. McMurdie, S. Holmes // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 22. – No. 8(4). – P. e61217.

194. Microbial Interactions Within Multiple-Strain Biological Control Agents Impact Soil-Borne Plant Disease / B. Niu, W. Wang, Z. Yuan [et al.] // *Frontiers in Microbiology*. – 2020. – Vol. 11. – P. 2452.
195. Microbicocenosis of *Triticum aestivum* L. Rhizosphere depending on variety and growing conditions / T. Melnichuk, A. Egovtseva, S. Abdurashytov [et al.] // *Microbial Biotechnology*. – 2018. – P. 136–136.
196. Micro-organism genetic resources for food and agriculture and climate change / F. Beed, A. Benedetti, G. Cardinali [et al.] // *FAO. Coping with climate change – the roles of genetic resources for food and agriculture*. – 2015. – P. 83–100.
197. Molecular Insights into Soil Amendments Regulating Selenium and Cadmium Bioavailability in a Soil-Rapeseed System: Synergistic DOM Transformation and Microbial Metabolic Reprogramming / F. Zhou, M. Qi, W. Zhao [et al.] // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2026. – Vol. 74. – No. 7. – P. 5973–5988.
198. Multitrophic interactions in the rhizosphere microbiome of wheat: from bacteria and fungi to protists / M. Rossmann, J. E. Perez-Jaramillo, V. N. Kavamura [et al.] // *FEMS microbiology ecology*. – 2020. – Vol. 96. – No. 4. – P. fiae032.
199. Nalbandian, A. A. PCR identification of the *nifH* nitrogen fixation gene in *Azotobacter* sp. / A. A. Nalbandian, N. V. Bezler, I. V. Cherepukhina // *Sakhar*. – 2019. – No. 9. – P. 7–9.
200. Organic farming induces changes in soil microbiota that affect agroecosystem functions / G. Bonanomi, F. De Filippis, G. Cesarano [et al.] // *Soil Biology and Biochemistry*. – 2016. – Vol. 103. – P. 327–336.
201. Park, D. Nitrous oxide reduction by an obligate aerobic bacterium, *Gemmatimonas aurantiaca* strain T-27 / D. Park, H. Kim, S. Yoon // *Applied and environmental microbiology*. – 2017. – Vol. 83. – No. 12. – P. e00502-17.
202. PGPR-mediated induction of systemic resistance and physiochemical alterations in plants against the pathogens: Current perspectives / M. Meena, P. Swapnil, K. Divyanshu [et al.] // *Journal of Basic Microbiology*. – 2020. – Vol. 60. – No. 10. – P. 828–861.

203. Plant host and soil origin influence fungal and bacterial assemblages in the roots of woody plants / G. Bonito, H. Reynolds, M. S. Robeson [et al.] // *Molecular ecology*. – 2014. – Vol. 23. – No. 13. – P. 3356–3370.
204. Prabhakar, P. K. Bacterial siderophores and their potential applications: a review / P. K. Prabhakar // *Current molecular pharmacology*. – 2020. – Vol. 13. – No. 4. – P. 295–305.
205. Protein signatures to identify the different genera within the *Xanthomonadaceae* family / A. M. Cutiño-Jiménez, C. F. M. Menck, Y. T. Cambas [et al.] // *Brazilian Journal of Microbiology*: [publication of the Brazilian Society for Microbiology]. – 2020. – Vol. 51(4). – P.1515–1526.
206. *Pseudomonadaceae*: From biocontrol to plant growth promotion / R. Roquigny, A. Novinscak, A. Biessy [et al.] // *Rhizotrophs: Plant Growth Promotion to Bioremediation*. Springer, Singapore. – 2017. – P. 39–68.
207. QIIME allows analysis of highthroughput community sequencing data. / J. G. Caporaso, J. Kuczynski, J. Stombaugh [et al.] // *Nature methods*. – 2010. – Vol. 7(5). – P. 335–336.
208. Quality traits drive the enrichment of Massilia in the rhizosphere to improve soybean oil content / Q. Han, G. Zhu, H. Qiu [et al.] // *Microbiome*. – 2024. – Vol. 12. – No. 1. – P. 224.
209. Rashid, M. H. Nitrogen-fixing plant-microbe symbioses / M. H. Rashid, M. Krehenbrink, M. S. Akhtar // *Sustainable agriculture reviews*. – Springer, Cham, 2015. – P. 193–234.
210. Relationships between root morphology, root exudate compounds and rhizosphere microbial community in durum wheat / A. Iannucci, L. Canfora, F. Nigro [et al.] // *Applied Soil Ecology*. – 2021. – Vol. 158. – P. 103781.
211. Rhizosphere effects on soil organic carbon processes in terrestrial ecosystems: A meta-analysis / X. Zhao, P. Tian, Z. Sun [et al.] // *Geoderma*. – 2022. – Vol. 412. – P. 115739.

212. Role of microbial inoculants as bio fertilizers for improving crop productivity: A review / D. Shahwar, Z. Mushtaq, H. Mushtaq // *Heliyon*. – 2023. – Vol. 9. – No. 6. – P. e16134.

213. Role of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as a plant growth enhancer for sustainable agriculture: A review / A. Hasan, B. Tabassum, M. Hashim [et al.] // *Bacteria*. – 2024. – Vol. 3. – No. 2. – P. 59–75.

214. Roles of non-ionic surfactant sucrose ester on the conversion of organic matters and bacterial community structure during composting / G. Li, Q. Zhu, Z. Jiang [et al.] // *Bioresource Technology*. – 2020. – P. 123279.

215. Root exudates mediate plant defense against foliar pathogens by recruiting beneficial microbes / T. Wen, M. Zhao, J. Yuan [et al.] // *Soil Ecology Letters*. – 2021. – Vol. 3. – No. 1. – P. 42–51.

216. Saad, M. M. G. Isolation and Identification of Plant Growth-Promoting Bacteria Highly Effective in Suppressing Root Rot in Fava Beans / M. M. G. Saad, M. Kandil, Y. M. M. Mohammed // *Current microbiology*. – 2020. – Vol. 77. – No. 9. – P. 2155–2165.

217. Sharifi, P. Effects of Nitrogen and *Azotobacter* on Yield and Yield components of Wheat (*Triticum aestivum* L.) cv. Roushan / P. Sharifi, M. Amirusefi // *Journal of agricultural science and sustainable production*. – 2017. – Vol. 27. – No. 2. – P. 125–144.

218. Sharma, N. Consumers perception and Behaviour towards organic food: A systematic review of literature / N. Sharma, R. Singhvi // *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. – 2018. – № 7(2). – P. 2152–2155.

219. Shifts in microbial community structure and soil nitrogen mineralization following short-term soil amendment with the ammonifier *Bacillus amyloliquefaciens* DT / C. Hui, P. Sun, X. Guo [et al.] // *International Biodeterioration & Biodegradation*. – 2018. – No. 132. – P. 40–48.

220. Shifts in plant functional trait dynamics in relation to soil microbiome in modern and wild barley / A. Kumar, O. Kuznetsova, S. Gschwendtner [et al.] // *Plants, People, Planet*. – 2024. – Vol. 6. – No. 6. – P. 1398–1412.

221. Simultaneous bioremediation of Cr (VI) and lindane in soil by *Actinobacteria* / M. A. Polti, J. D. Aparicio, C. S. Benimeli [et al.] // International Biodeterioration & Biodegradation. – 2014. – Vol. 88. – P. 48–55.

222. Soil and microbial C: N: P stoichiometries play vital roles in regulating P transformation in agricultural ecosystems: A review / C. Guanglei, Y. Jiahui, W. Shenqiang // Pedosphere. – 2024. – Vol. 34. – No. 1. – P. 44–51.

223. Soil and mineral nutrients in plant health: A prospective study of iron and phosphorus in the growth and development of plants / M. A. Bhat, A. K. Mishra, S. Shah [et al.] // Current issues in molecular biology. – 2024. – Vol. 46. – No. 6. – P. 5194–5222.

224. Study of bacteria of the family *Micrococcaceae* degrading mono (poly) aromatic compounds promising for the development of biotechnologies for purification of industrial territories of the Perm region / E. G. Plotnikova, O. V. Yastrebova, E. S. Korsakova [et al.] // Journal of the Perm Federal Research Centre. – 2022. – Vol. 2. – P. 47–55.

225. Study of microbiological processes in the soil of a two-year fallow / I. Malynovska, M. Tkachenko, V. Bulgakov [et al.] // Journal of Ecological Engineering. – 2023. – Vol. 24. – No. 2. – P. 309–316.

226. Suresh, A. Harnessing the microbial interactions in rhizosphere and microbiome for sustainable agriculture / A. Suresh, J. Abraham // Microbial Interventions in Agriculture and Environment. – Springer, Singapore. – 2019. – P. 497–515.

227. The activity of the microbial groups of maize root-zone in different crop rotations / O. Y. Karpenko, V. M. Rozhko, A. O. Butenko [et al.] // Ukrainian Journal of Ecology. – 2020. – Vol. 10. – № 2. – P. 137–140.

228. The difference between cellulolytic ‘culturomes’ and microbiomes inhabiting two contrasting soil types / E. V. Evdokimova, G. V. Gladkov, N. I. Kuzina [et al.] // PLoS One. – 2020. – Vol. 15. – No. 11. – P. e0242060.

229. The Effect of Cadmium Tolerant Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Plant Growth Promotion and Phytoremediation: A Review / A. Kumar, N. Kumari, A. Singh [et al.] // *Current Microbiology*. – 2023. – Vol. 80(5). – P. 153.
230. The Family *Chitinophagaceae* / E. Rosenberg, E. F. DeLong, S. Lory [et al.] // *The Prokaryotes*. – Springer, Berlin, Heidelberg. – 2014. – P. 493–495.
231. The First Insight into Polyhydroxyalkanoates Accumulation in Multi-Extremophilic *Rubrobacter xylophilus* and *Rubrobacter spartanus* / X. Kouřilová, J. Schwarzerová, I. Pernicová [et al.] // *Microorganisms*. – 2021. – Vol. 9. – No. 5. – P. 909.
232. The functions of potential intermediates and fungal communities involved in the humus formation of different materials at the thermophilic phase / Z. Kong, M. Wang, X. Shi [et al.] // *Bioresource Technology*. – 2022. – Vol. 354. – P. 127216.
233. The influence of long-term Zn and Cu contamination in Spolic Technosols on water-soluble organic matter and soil biological activity / I. V. Zamulina, A. V. Gorovtsov, T. M. Minkina [et al.] // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2021. – Vol. 208. – P. 111471.
234. The rhizosphere microbiome: functions, dynamics, and role in plant protection / M. R. de Faria, L. S. A. S. Costa, J. B. Chiaramonte [et al.] // *Tropical Plant Pathology*. – 2021. – Vol. 46. – No. 1. – P. 13–25.
235. The rhizospheric microbial community structure and diversity of deciduous and evergreen forests in Taihu Lake area, China. / Z. Wei, X. Hu, X. Li [et al.] // *PLoS ONE*. – 2017. – Vol. 12. – No. 4. – P. e0174411.
236. The role of organic matter amendment level on soil heating, organic acid accumulation, and development of bacterial communities in solarized soil / C. W. Simmons, B. Higgins, S. Staley [et al.] // *Applied Soil Ecology*. – 2016. – Vol. 106. – P. 37–46.
237. The Taxonomic Structure of the Prokaryotic Biome of the Rhizosphere *Triticum aestivum* L. Depending on the Variety and Application of Associative Bacteria / A. Yu. Egovtseva, T. N. Melnichuk, S. F. Abdurashitov [et al.] //

Collection of materials of the 15th International Scientific Conference "INTERAGROMASH 2022", Rostov-on-Don: Springer Cham, 2023. – Vol. 575-2. – P. 1878–1887

238. Tolerance of heavy metal toxicity using PGPR strains of *Pseudomonas* species / S. K. Singh, P. P. Singh, A. Gupta [et al.] // PGPR Amelioration in Sustainable Agriculture. – Woodhead Publishing, 2019. – P. 239–252.

239. Toxicity and activity inhibition of metal-organic framework MOF-199 to nitrogen-fixing bacterium *Azotobacter vinelandii* / B. Ouyang, F. Liu, C. Liang [et al.] // Science of the Total Environment. – 2022. – Vol. 813. – P. 151912.

240. Turkovskaya, O. V. The Collection of Rhizosphere Microorganisms: Its importance for the study of associative plant-bacterium interactions / O. V. Turkovskaya, S. N. Golubev // Vavilov Journal of Genetics and Breeding. – 2020. – Vol. 24. – No. 3. – P. 315.

241. Unraveling the synergistic effects of *Bacillus cereus* and different concentrations of silicon nanoparticles on wheat under rain-fed conditions of Pakistan/ M. Umer, K. Perveen, F. Khan [et al.] // Environmental Geochemistry and Health. – 2026. – Vol. 48. – No. 7. – P. 321.

242. *Verrucomicrobia* in soil: An agricultural perspective / B. Dash, S. Nayak, A. Pahari [et al.] // Frontiers in soil and environmental microbiology. – CRC Press, 2020. – P. 37–46.

243. Wendeborn, S. The chemistry, biology, and modulation of ammonium nitrification in soil / S. Wendeborn // Angewandte Chemie International Edition. – 2020. – Vol. 59. – No. 6. – P. 2182–2202.

244. Wolińska, A. Biodiversity in the rhizosphere of selected winter wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars—Genetic and catabolic fingerprinting / A. Wolińska, A. Kuźniar, A. Gałazka // Agronomy. – 2020. – Vol. 10. – No. 7. – P. 953.

245. Wright, E. S. “Using DECIPHER v2.0 to Analyze Big Biological Sequence Data in R.”/ E. S. Wright // The R Journal. – 2016. – Vol. 8. – No. 1. – P. 352–359.

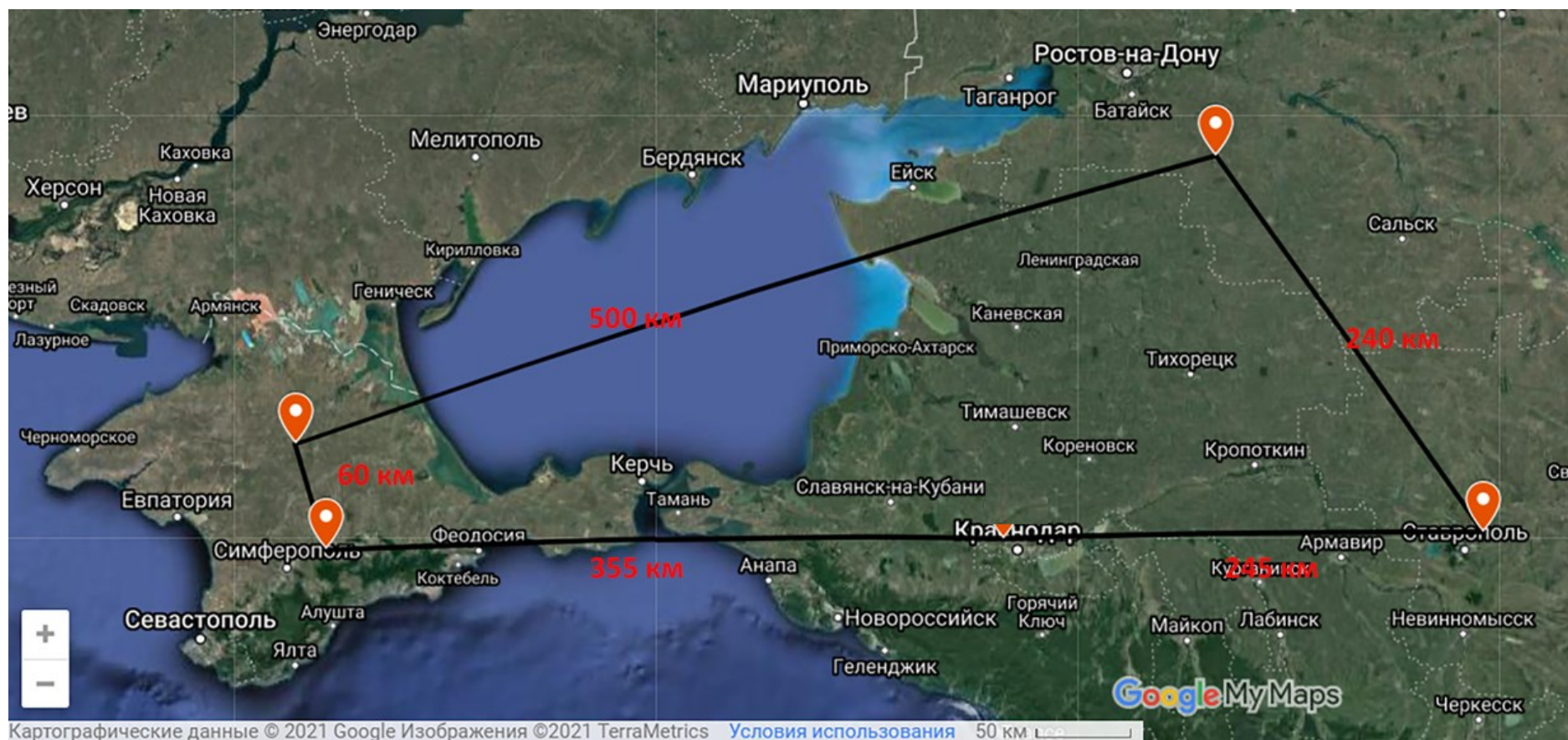
246. Xu, S. Structure, acquisition, assembly, and function of the root-associated microbiomes in Japonica rice and hybrid rice / S. Xu, Q. Qiu, C. Yan // Agriculture, Ecosystems & Environment. – 2024. – Vol. 373. – P. 109122.

247. Yield Enhancement by Application of Plant Growth Promoting Rhizobacterial (PGPR) Inoculants in Dryland Wheat (*Triticum aestivum* L.) / K. Khavazi, Asl V. Feizi, M. H. Sedri // Journal Of Agroecology. – 2020. – Vol. 12. – No. 3. – P. 447–467.

248. Yousuf, G. K. Mitigating drought and heavy metals stress in *Triticum aestivum* L. using multi-trait tolerant plant growth-promoting endophytic *Trichoderma* sp. Ghadah-K4 / G. K. Yousuf // Journal of Crop Science and Biotechnology. – 2026. – P. 1–25.

ПРИЛОЖЕНИЯ

ПРИЛОЖЕНИЕ А Карта отбора растительно-почвенных монолитов в экспедиции 2018 года



ПРИЛОЖЕНИЕ Б Метеорологические условия за период проведения полевых опытов

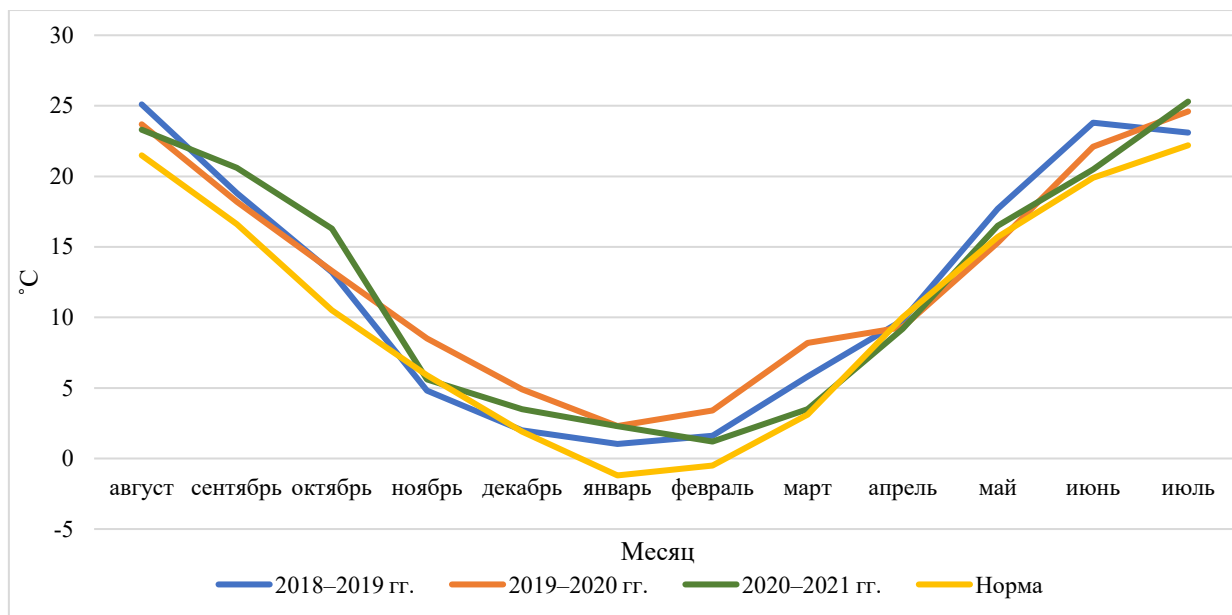


Рисунок 1 – Динамика среднемесячных температур воздуха в сравнении со среднеголевыми показателями (2018-2021 гг.)

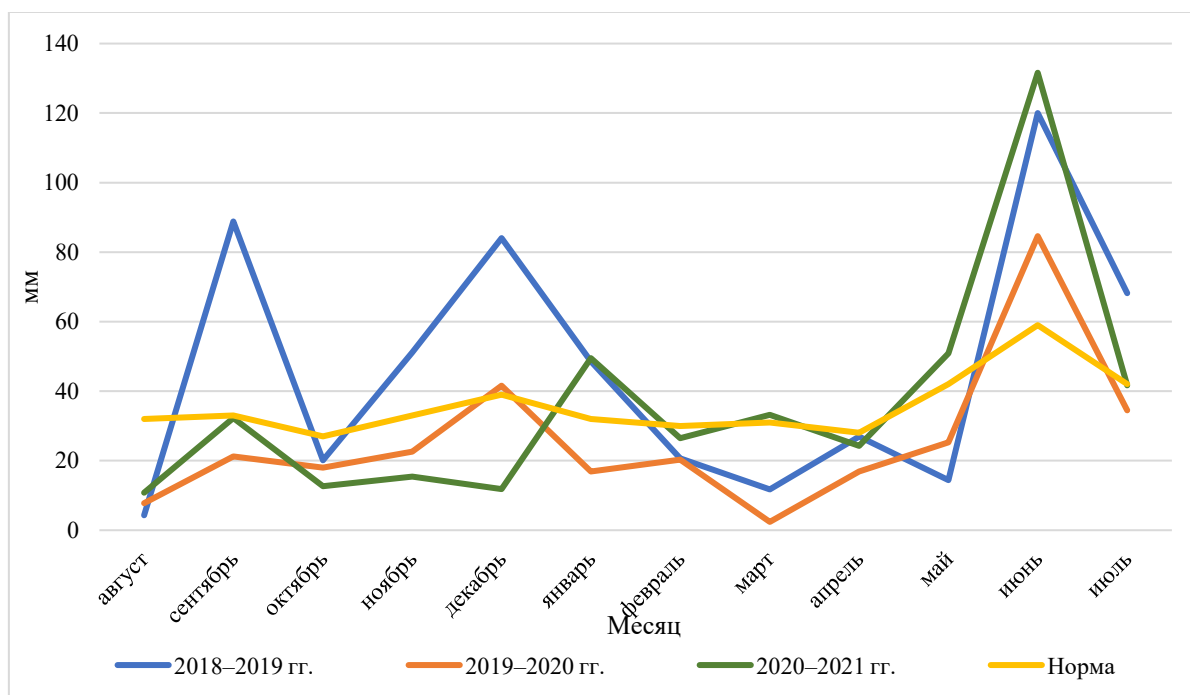
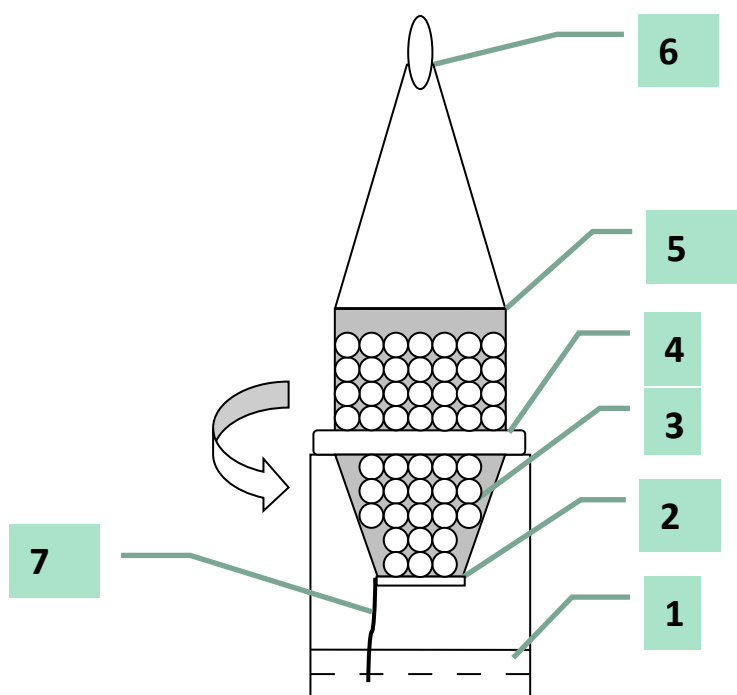


Рисунок 2 – Динамика сумм осадков в сравнении со среднеголевыми показателями (2018-2021 гг.)

ПРИЛОЖЕНИЕ В Модифицированные вегетационные сосуды Леонарда:

1. – сосуд с водой;
2. – мелкоячеистая сетка или ткань;
3. – сосуд с субстратом;
- 4 – ватно-марлевая обвязка для плотности соединения сосудов;
- 5 – место соединения двух сосудов обвязано лентой целлофана;
- 6 – ватно-марлевая пробка;
- 7 – гнот обеспечивает увлажнения субстрата



**ПРИЛОЖЕНИЕ Г Шкала оценки степени обогащенности почвы
микроорганизмами***

Степень обогащенности почвы микрофлорой		Количество микроорганизмов почвы, определенных культивированием на различных питательных средах, млн КОЕ/1 г абсолютно-сухой почвы		
		МПА, ПВ	КАА, АГК, СГК, АЭ, АЧД, АГ-1	ПА, ГА, НА
I	очень бедная	< 1	< 2	< 5
II	бедная	1 – 2	2 – 4	5 – 6
III	средняя обогащенность	3 – 5	5 – 10	7 – 12
IV	богатая	6 – 10	11 – 20	13 – 30
V	очень богатая	> 11	> 21	> 30

* – Титова В.И., Козлов А.В. Методы оценки функционирования микробоценоза почвы, участвующего в трансформации органического вещества. – Нижний Новгород: Нижегородская с.-х. академия, 2012. – С. 55.

ПРИЛОЖЕНИЕ Д Распределение подсистем RAST

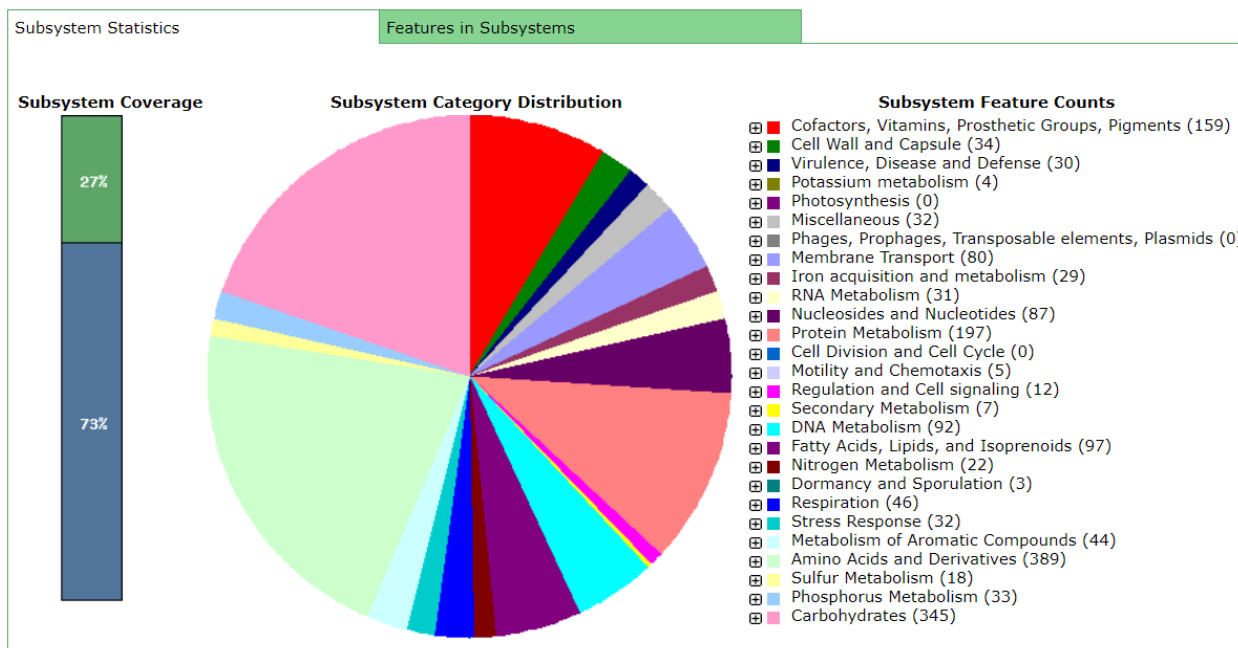


Рисунок 1 – Доли подсистем RAST у штамма *Paenarthrobacter nitroguajacolicus* M3 (метод аннотации RASTtk)

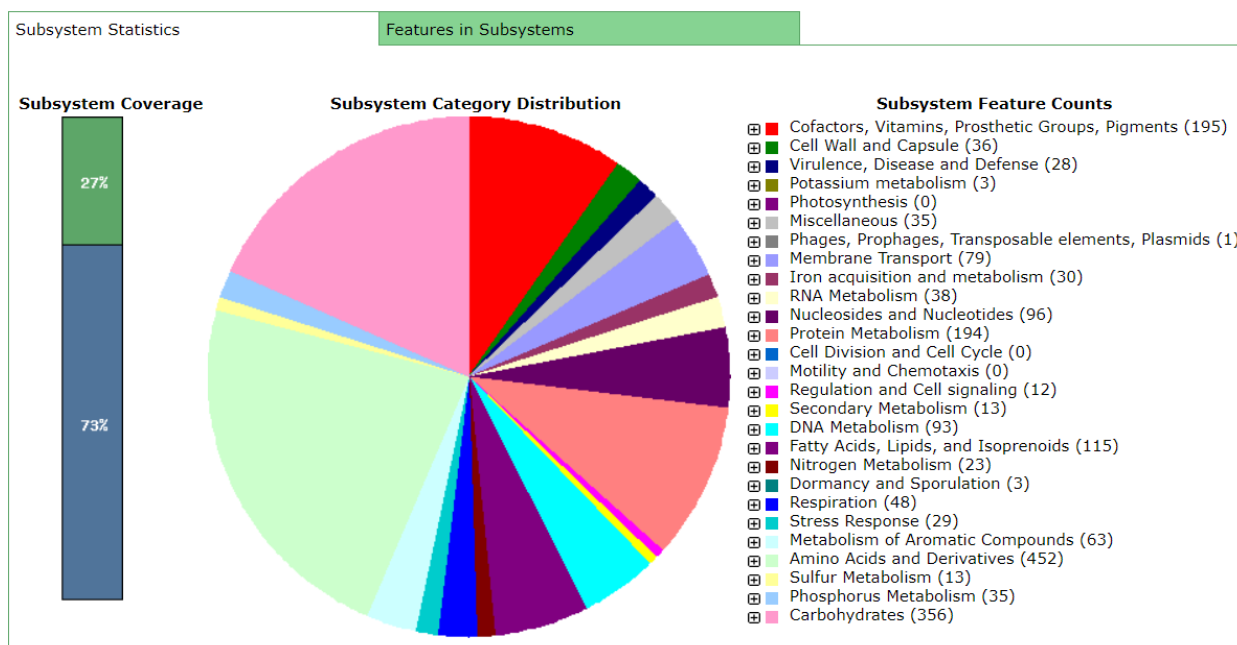
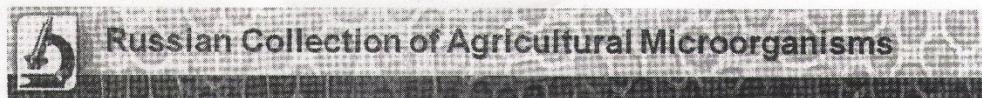


Рисунок 2 – Доли подсистем RAST у штамма *Paenarthrobacter nitroguajacolicus* L1 (метод аннотации RASTtk)

ПРИЛОЖЕНИЕ Е

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИФедеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Всероссийский научно-исследовательский институт
сельскохозяйственной микробиологии»
(ФГБНУ ВНИИСХМ)196608 Санкт-Петербург, Пушкин,
шоссе Подбельского, 3
Телефон 8-812-470-51-00
Факс 470-43-62Выдано в ФГБНУ «НИИСХ
Крыма»21.07.2022 г. № 112/07
на №

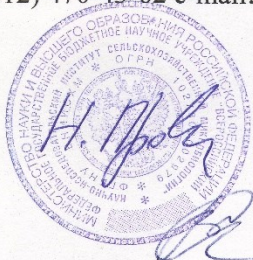
СПРАВКА

о депонировании культуры микроорганизмов в Сетевой биоресурсной
коллекции в области генетических технологий для сельского хозяйства
(RCAM)

- 1. Депозитор:** Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма» (ФГБНУ «НИИСХ Крыма»), 295034, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Киевская, д 150.
- 2. Авторы:** Мельничук Т.Н., Еговцева А.Ю., Каменева И.А., Абдурашитов С.Ф., Абдурашитова Э.Р., Каменева И.А., Якубовская А.И.
- 3. Штамм *Bacillus wiedmannii* B5** положительно влияет на всхожесть, биомассу проростков и продуктивность растений пшеницы озимой при обработке семян. Является перспективным для промышленного производства биопрепарата.
- 4. Штамм *Bacillus wiedmannii* B5** депонирован с целью проведения патентной процедуры 23 июня 2022 г. под регистрационным номером **RCAM05963**.
- 5. Адрес коллекции:** 196608, Санкт - Петербург, Пушкин, шоссе Подбельского, 3, ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии; тел. (812) 470-51-00, факс (812) 470-43-62 e-mail: v.safronova@rambler.ru, сайт: <http://www.arriam.ru/>

Директор института,
д.б.н.

Заведующая RCAM, к.б.н.



Н.А. Проворов

В.И. Сафронова

«УТВЕРЖДАЮ»
 Директор ФГБНУ ФНЦБЗР
 Асатулова А.М.
 «07» октября 2026 г.

Приложение № 1
 к договору № 07-13/2026
 от «07» октября 2025 г.
 «УТВЕРЖДАЮ»
 Директор ФГБНУ «НИИСХ Крыма»
 Нахтецкий В.С.
 «01» октября 2026 г.

АКТ

внедрения инновационного продукта

Настоящий Акт составлен в том, что

Инновационный продукт: биопрепарат на основе *Bacillus wiedmannii* B5 (регистрационный номер в Сетевой биоресурсной коллекции в области генетических технологий для сельского хозяйства RCAM 05963, справка о депонировании № 112/07 от 21.07.2022 г.).

Патентообладатель: разработан ФГБНУ «НИИСХ Крыма»

Автор(ы): Мельничук Татьяна Николаевна, Еговцева Анна Юрьевна, Абдурашитов Сулейман Февзиевич, Абдурашитова Эльвина Расимовна, Каменева Ирина Алексеевна, Якубовская Агла Ивановна.

внедрено ФГБНУ ФНЦБЗР

Биопрепарат на основе ростстимулирующего штамма *Bacillus wiedmannii* B5 из Крымской коллекции микроорганизмов передан для использования в интегрированной технологии выращивания пшеницы мягкой озимой сорта Алексееч в рамках «Дня БиоПоля - 2026».

Ответственные за внедрение от ФГБНУ «НИИСХ Крыма»:

Зам. директора по производству
 и внедрению инновационных разработок _____ / Зубоченко Д.В. /

Зав. отделом сельскохозяйственной
 микробиологии _____ / Якубовская А.И. /

Ответственные за внедрение от ФГБНУ ФНЦБЗР

Зам. директора по развитию и координации НИР,
 гл.н.с. лаб. иммунитета растений к болезням, д.б.н.,
 член-корр. РАН _____ Волкова Г.В.

Начальник отдела интеллектуальной
 собственности и инновационного развития, к.с.-х.н. _____ Ермоленко С.А.

Руководитель производственных проектов, к.б.н. _____ Шипиевская Е.Ю.

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФГБУН «НИИСХ

Крыма»

Пантеев В.С.

«22 октября 2026 г.



внедрения результатов диссертационной работы на соискание ученой степени кандидата биологических наук Еговцевой Анны Юрьевны на тему: «Биологическая активность черноземов и продуктивность озимой пшеницы при инокуляции ассоциативными ризобактериями».

Комиссия в составе:**Председателя комиссии:**

Дидович С.В., к.с.-х.н., зам. директора по научной работе.

Члены комиссии:

Белова И.В., к.с.-х.н., зав. отделом аспирантуры;

Мягких Е.Ф., к.б.н., ученый секретарь;

подтверждает, что результаты диссертационного исследования Еговцевой А.Ю. включены в курс лекций при разработке рабочей программы по дисциплине «Растительно-микробное взаимодействие» (раздел 3. Ассоциативный симбиоз), которая реализуется в рамках Основной профессиональной образовательной программы высшего образования – программы подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма» по направлению подготовки 06.06.01 Биологические науки.

Председатель комиссии:

к.с.-х.н., зам. директора по научной работе

Дидович С.В.

Члены комиссии:

к.с.-х.н., зав. отделом аспирантуры

Белова И.В.

к.б.н., ученый секретарь

Мягких Е.Ф.