

УДК 579.6

DOI: 10.31040/2222-8349-2025-0-1-60-67

ОЦЕНКА ФОСФАТМОБИЛИЗУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ РИЗОСФЕРНЫХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПОЧВ АСТРАХАНСКОЙ ОБЛАСТИ

© А.Н. Пархоменко, Д.В. Исаков

Азот и фосфор – важнейшие макроэлементы, влияющие на рост, развитие и урожайность растений. В настоящее время в различных типах почв нередко отмечают дефицит доступных форм этих элементов для растений. Альтернативой решения этой проблемы может стать применение бактерий, способных переводить в результате своей жизнедеятельности соединения азота и фосфора в доступные для растений формы. Особое внимание привлекают азотфиксирующие бактерии, способные проявлять целый спектр полезных свойств. Биопрепараты на основе этих микроорганизмов экономичны, безвредны, специфичны для конкретных условий региона и могут стать альтернативой применения химических удобрений, уровень использования которых во всем мире неуклонно растет. Целью данного исследования являлась сравнительная оценка фосфатмобилизующей активности азотфиксирующих бактерий на плотных и жидких питательных средах. Изучение интенсивности азотфиксации по методу Несслера позволило отобрать 11 наиболее продуктивных бактериальных изолятов для дальнейших исследований (концентрация свободного NH_4^+ в культуральной жидкости составляла 10.5–95.9 мкг/мл). В условиях лабораторных опытов *in vitro* установлено, что только 9 изолятов показали различную степень фосфатрастворяющей активности на плотных средах, при этом большинство из них способны к мобилизации фосфора преимущественно из неорганических, чем органических соединений. Выявлено, что высокие значения Кг характерны для изолятов КА-31 (6.38) и ЮЯ-13 (2.64), средний – для ПА-7 (0.69). В жидкой среде, содержащей $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, показано максимальное содержание фосфат-ионов в культуральной жидкости изолята ПА-7 – 128 мг/дм³, что соответствует мобилизации 69.6% внесенного фосфата кальция через 7 суток эксперимента. Три исследуемых изолята ЮЯ-13, КА-10 и КА-31 показали высокую и среднюю фосфатмобилизующую активность, растворяя 64.4, 48.1 и 42.0% $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ соответственно. Проведенные исследования позволили отобрать 4 изолята азотфиксирующих бактерий, проявляющих фосфатмобилизующие свойства, перспективных для создания биопрепаратов сельскохозяйственного назначения в условиях аридного климата Астраханской области.

Ключевые слова: почвы, биопрепараты, азотфиксирующие микроорганизмы, коэффициент фосфатмобилизации, фосфат-ионы.

Введение. Одними из важнейших макроэлементов, влияющих на рост, развитие и урожайность растений, являются азот и фосфор. Наряду с высоким содержанием этих элементов в различных типах почв, нередко констатируют дефицит доступных форм этих элементов для растений [1]. Так, в сельскохозяйственных почвах, по оценке некоторых авторов [2], количества накопленных нерастворимых фосфатов при условии их биосолюбилизации достаточно для поддержания урожайности культурных растений в течение последующих 100 лет. Внесение высоких доз фосфорных удобрений в почву неэффективно, как указывают авторы [3], из-за трансформации этих элементов в почвах

в нерастворимые соединения, а также может стать причиной закисления почвы и уменьшения содержания гумуса.

В настоящее время наиболее целесообразной альтернативой решения проблемы фосфорного и азотного питания растений является применение бактерий, способных в результате своей жизнедеятельности трансформировать молекулярный азот в ионы аммония и переводить соединения фосфора в подвижные и легко растворимые формы, пригодные для усвоения растениями [4].

Перспективно с этой точки зрения использование азотфиксирующих микроорганизмов. Они не только осуществляют фиксацию моле-

ПАРХОМЕНКО Анна Николаевна – к.б.н., Астраханский государственный технический университет, e-mail: parhoman@mail.ru

ИСАКОВ Доминик Владимирович, Центр лабораторного анализа и технических измерений по Астраханской области, e-mail: domnadomnica@mail.ru

кулярного азота, но и проявляют другие полезные свойства: способны к активному растворению органических и неорганических фосфатов [5], повышают доступность питательных веществ для растений [6], продуцируют физиологически активные и ростостимулирующие вещества [7], проявляют антагонистическую активность в отношении фитопатогенов, вызывающих заболевания растений. Создание биопрепаратов на основе таких микроорганизмов является перспективным и экологически приемлемым способом повышения плодородия почвы. Такие биопрепараты экономичны и безвредны для окружающей среды, специфичны для конкретных условий региона [7] и могут стать альтернативой применения химических удобрений [5], уровень использования которых во всем мире неуклонно растет [2].

Особое внимание при разработке биопрепаратов уделяют аборигенным изолятам микроорганизмов, так как их эффективность наиболее высока в тех экологических нишах, из которых они выделены.

В связи с этим целью работы являлась оценка фосфатрастворяющей активности азотфиксирующих бактерий, выделенных из ризосферы некоторых растений Астраханской области.

Материалы и методы исследования. Материалом для исследования выступали почвенные бактерии, выделенные из ризосферы яблони (*Malus P. Mill*, 1754) и смородины черной (*Ribes nigrum L.*, 1753).

Исследуемые бактерии выделены на агаризованной безазотистой среде Эшби [8] методом «почвенных комочков». На поверхность среды в чашках Петри раскладывали по 20 почвенных комочков, культивировали при температуре 27°C в течение 7 суток до появления слизистых обрастаний вокруг комочков, из которых затем выделяли микроорганизмы в чистые культуры. При изучении микроорганизмов отмечали степень ослизнения колоний, характер пигментации и особенности роста на агаризованной питательной среде; в микропрепаратах – наличие внеклеточных капсул и цист, окраску по Граму.

Способность к азотфиксации и оценку ее активности у исследуемых бактериальных изолятов определили по методу Несслера на основании измерения концентрации свободного NH_4^+ в культуральной жидкости. Для этого посеы культивировали в течение 7 суток при

температуре 27°C в жидкой среде Эшби. Из каждого образца отбирали 6 мл культуральной жидкости, центрифугировали в течение 8 мин при 10 000 об/мин ($T=20^\circ\text{C}$). К полученному супернатанту добавили по 2 мл 50%-го раствора сегнетовой соли и 1 мл реактива Несслера. После появления характерного желтого окрашивания определили оптическую плотность исследуемого раствора с помощью спектрофотометра ПЭ-5400УФ при длине волны 410 нм (контроль – стерильная среда Эшби с добавленными реактивами) [9]. Концентрацию катионов аммония в культуральной жидкости рассчитали, используя калибровочный график.

Исследовали способность исследуемых бактерий растворять как ортофосфаты, так и органофосфаты, методом посева на плотные питательные среды: агар Муромцева следующего состава (г/л): глюкоза – 10; аспарагин – 1; K_2SO_4 – 0.2; MgSO_4 – 0.2; $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ – 2.5; кукурузный экстракт – 0.02; агар – 20 [8] и агар Менкиной (г/л): глюкоза – 10; мел – 5; FeSO_4 – следы; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0.3; NaCl – 0.3; KCl – 0.3; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 0.5; лецитин – 5.0; агар – 30 [10].

Посевы культивировали в течение 7 суток при температуре 27°C. Активность фосфатмобилизации оценивали по величине коэффициента удельной фосфатрастворяющей активности штаммов (K_f) согласно методике, описанной в работах [1, 7], то есть вычисляли отношение радиуса зоны растворения фосфатов к радиусу выросших колоний. Опытные значения K_f до 0.49 соответствуют низкой степени активности; 0.5–1.49 – средней; а 1.5 и выше – высокой фосфатрастворяющей способности [1, 7].

Количественную оценку фосфатрастворяющей активности проводили согласно ПНД Ф 14.1:2:4.112-97. Для этого опытные штаммы засекали в колбы Эрленмейера с жидкой средой Муромцева, в среду вносили $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ из расчета 0.3 г на 50 мл среды (расчетным путем получаем, что на 300 мг вещества приходится 183.87 мг фосфат-ионов). Культивировали посеы на лабораторном шейкере ЭКРОС ПЭ-6410 при 27°C в течение 7 суток. В каждом из вариантов на всех контрольных точках эксперимента отбирали по 5 мл культуральной жидкости. Данный объем фильтровали через мембранный фильтр и центрифугировали не менее 5 минут при 5000 об./мин. Полученный супернатант объемом 2 мл доводили до 50 см³ дистиллированной водой, затем прибавляли реактивы и анализировали согласно методике

[11]. Измерение оптической плотности растворов проводили при длине волны 690 нм по отношению к холостому раствору с помощью спектрофотометра ПЭ-5400УФ. Контрольной пробой служила стерильная среда Муромцева. Концентрация фосфат-ионов в контрольной пробе составила 0.4 мг/дм³. Эти показания в последующем вычитали из концентрации фосфат-ионов в опытных вариантах.

Параллельно в контрольные точки проводили определение численности микроорганизмов по методу Виноградского-Брида и отслеживали динамику изменения рН среды с помощью анализатора жидкости «ЭКСПЕРТ-001».

Все эксперименты проводили в четырехкратной повторности для каждого изолята, в работе представлены средние значения показателей. Доверительные интервалы определяли для 95% уровня значимости. Математическую обработку экспериментальных данных проводили общепринятыми методами для биологических исследований с использованием программы Microsoft Excel for Windows.

Результаты и обсуждения. Из ризосферы яблони (*Malus P. Mill*, 1754) и смородины черной (*Ribes nigrum L.*, 1753) (темно-каштановая почва) методом «почвенных комочков» нами выделены 34 бактериальных изолята на безазотистой среде Эшби. Выделенные изоляты формируют сильно ослизненные пигментированные бурые колонии с прозрачными зонами вокруг колоний. Среди исследуемых культур присутствуют как стабильно палочковидные, кокковидные, так и плеоморфные формы. Все культуры грамотрицательные, обладают подвижностью, каталазоположительны, клетки образуют капсулы и цисты.

Как известно, азот является самым значимым элементом минерального питания, определяющим условия жизни и развития растений в почвах. Часто именно дефицит азота является основным лимитирующим фактором для производства сельскохозяйственной продукции [12]. Ключевую роль в круговороте азота играют азотфиксирующие микроорганизмы: они связывают недоступный растениям атмосферный молекулярный азот и выделяют его в форме ионов аммония в почву.

Несмотря на хороший и обильный рост выделенных бактерий на среде Эшби, не содержащей органических или минеральных форм азота, только у 11 исследуемых изолятов в культураль-

ной жидкости обнаружены катионы NH₄⁺ в концентрации 10.5–95.9 мкг/мл (табл. 1).

Т а б л и ц а 1

Азотфиксирующая активность исследуемых изолятов

Изоляты	Концентрация NH ₄ ⁺ , мкг/мл	Численность клеток (n×10 ⁶ кл/мл)
ЮЯ-13	95.9±4.8	1.4±0.07
АБС-25	94.2±4.7	4.2±0.21
ГСМ-19	93.5±4.6	3.5±0.18
КА-10	81.6±4.1	1.7±0.09
ЮЯ-4	76.5±3.8	3.6±0.18
СМ-19	71.4±3.5	3.0±0.15
ГР-1	64.6±3.2	1.1±0.05
АБС-27	61.2±3.0	2.2±0.11
ПА-7	56.1±2.8	2.0±0.1
АБС-24	36.4±1.8	0.2±0.01
ПА-20	10.5±0.5	0.9±0.04

Отсутствие катионов NH₄⁺ в культуральной жидкости изолятов, потенциально способных к азотфиксации, по некоторым литературным данным может быть связано с образованием соединений аммония иного происхождения [13].

Фосфор – второй по значимости среди макроэлементов элемент, недостаток которого негативно влияет на рост и развитие растений, в целом снижая их продуктивность [4]. Фосфор содержится в почве в составе органических (инозитфосфаты, фосфорсодержащие белки, фосфолипиды и нуклеиновые кислоты и др.) и труднодоступных неорганических соединений (в основном ортофосфаты кальция). В повышении доступности соединений фосфора для растений уникальна роль почвенных микроорганизмов. За счет выделения ими различных кислот и щелочных фосфатаз происходит образование кислых солей фосфора, доступных для растений [8]. Одним из самых удобных методов выделения микроорганизмов, способных к солюбилизации фосфатов, является чашечный [8], основанный на отборе активных микроорганизмов с прозрачными зонами растворения фосфатов вокруг колоний.

Так, девять изолятов показали различную степень фосфатрастворяющей активности в отношении органических и неорганических фосфатов, что выражалось в образовании вокруг их колоний прозрачных зон (зон «гало»).

Однако об активности микроорганизмов в опытах на агаризованных средах более кор-

ректно судить не по абсолютной величине зоны растворения фосфата, а по соотношению величины этой зоны к размеру колонии, на что указывают авторы [1, 14]. С этой целью рассчитали опытные значения коэффициента K_f , по которым судили о степени удельной фосфатмобилизующей активности исследуемых бактерий (табл. 2).

Т а б л и ц а 2

Фосфатмобилизующая активность исследуемых изолятов

Изоляты	K_f	
	Агар Муромцева с $Ca_3(PO_4)_2$	Агар Менкиной с лецитином
КА-31	6.38±0.3	0.72±0.036
ПА-7	0.69±0.03	0.17±0.008
ЮЯ-4	0.25±0.012	0.18±0.009
КА-10	0.17±0.008	0.17±0.008
ПА-20	0.17±0.008	0.1±0.005
ЮЯ-13	0.1±0.005	2.64±0.13
АБС-24	0.1±0.005	0.35±0.017
СМ-19	0.1±0.005	0.03±0.0015
АБС-25	0.1±0.005	0.03±0.0015

Коэффициент K_f на среде, содержащей ортофосфат кальция варьировал от 0.1 до 6.38 и в целом показал более высокие значения, чем на среде с лецитином. Необходимо также уточнить, что максимальное численное значение K_f отмечено для изолятов КА-31 и ЮЯ-13 и составило 6.38 и 2.64, что соответствует высокой степени фосфатрастворяющей активности, причем изолят КА-31 отличается тем, что в большей степени способен мобилизовать фосфор из неорганических, чем органических соединений (табл. 2).

В то же время мы считаем, что при оценке фосфатмобилизующей активности опираться только на размеры так называемых «зон гало», образуемых изолятами на плотных питательных средах, недостаточно. Так как не всегда эти данные подтверждены в опытах с использованием жидких сред или в почвах, на что также указывает ряд авторов [4, 15]. Так, в работе [2], в экспериментах с почвой микроорганизмы, проявившие себя *in vitro* как фосфатмобилизующие, не оказали заметного влияния на питание растений.

Последующие исследования заключались в определении динамики содержания высвобождаемых фосфатов при культивировании их

в жидкой среде Муромцева с внесением $Ca_3(PO_4)_2$. Отмечено, что исследуемые изоляты способны к активной мобилизации ортофосфата кальция в жидкой среде. Содержание фосфата в культуральной жидкости исследуемых изолятов линейно увеличивалось на протяжении всего времени культивирования. При этом максимальную активность проявил изолят ПА-7: на 7-е сутки зафиксирована самая большая концентрация фосфат-ионов в культуральной жидкости этого изолята среди всех исследуемых нами микроорганизмов – 128 мг/дм³ (рис. 1).

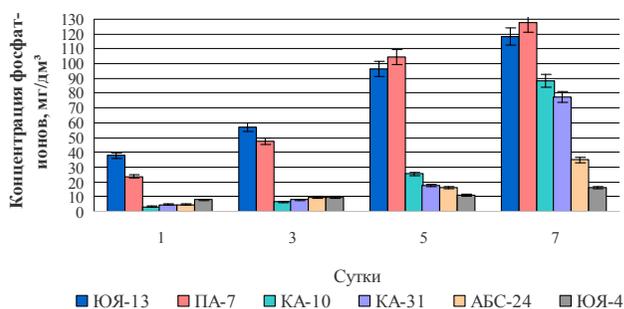


Рис. 1. Определение количества фосфат-иона, мг/дм³

Так как растворение фосфатов, как правило, происходит за счет выделяемых микроорганизмами органических и неорганических кислот [4, 8] параллельно с содержанием фосфат-иона, измеряли уровень рН среды и учитывали количество живых клеток бактерий на каждом этапе эксперимента.

В результате исследований установлено, что показатели рН снижаются в процессе культивирования исследуемых бактерий с 7.0 до 4.35–5.36 (рис. 2), что свидетельствует о выделении метаболитов кислотного характера.

Соотнесение уровня накопления фосфатов в культуральной жидкости исследуемых изолятов с изменением рН среды (рис. 2, а) и накоплением биомассы клеток (рис. 2, б) показало, что наиболее активное растворение $Ca_3(PO_4)_2$ изолятами ПА-7 и КА-31 связано с увеличением численности бактерий и сопровождается снижением уровня рН, о чем свидетельствуют достоверные корреляционные зависимости между этими показателями ($r = -0.75-0.79$). Снижение уровня рН культуральной жидкости может быть связано с образованием бактериями кислот в результате прямого окисления глюкозы, которое напрямую зависит от количества образовавшихся клеток в среде, что также подтверждается литературными данными [15].

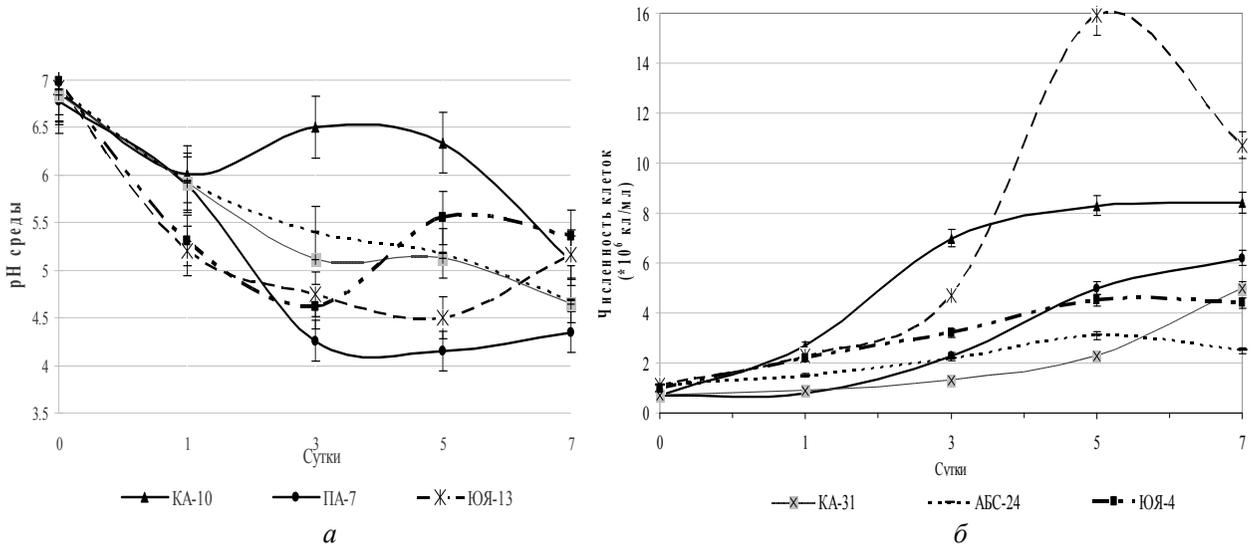


Рис. 2. Изменение pH среды (а) и количества живых клеток бактерий (б) в эксперименте

Однако наряду со снижением численности некоторых изолятов, например ЮЯ-13, на фоне увеличения концентрации фосфат-ионов регистрировали и повышение pH среды (с 4.5 до 5.17). Данное явление может свидетельствовать о способности изолятов к продукции таких метаболитов, как, например, ферменты группы гидролаз или других соединений со схожим фосфатрастворяющим эффектом действия, что описано в работе [1].

Рост изолята КА-10 сопровождался самым небольшим снижением pH – до 5.1. Однако в среде к концу эксперимента зарегистрировано увеличение концентрации фосфат-ионов до 88.5 мг/дм³ (рис. 1). Подобное явление, как отмечают некоторые авторы [4], может означать, например, выделение культурой КА-10 в среду метаболитов, имеющих слабокислую реакцию среды, но реагирующих с фосфатом кальция.

Главным параметром в эксперименте, определяющим интенсивность фосфатмобилизации, нами выбрана степень растворения Ca₃(PO₄)₂, внесенного в жидкую среду Муромцева (в %) для культивирования исследуемых изолятов. Зная массу добавленного Ca₃(PO₄)₂, рассчитали содержание PO₄²⁻ и, учитывая содержание фосфат-аниона, освобожденного в результате солубилизации фосфата кальция, расположили изоляты по степени убывания их активности следующим образом (рис. 3).

Полученные результаты позволили оценить степень фосфатмобилизации исследуемых бактериальных изолятов: ПА-7 и ЮЯ-13 как обладающие высокой активностью (растворе-

ние внесенного Ca₃(PO₄)₂ составило 69.6 и 64.4%, соответственно), а КА-10 и КА-31 – средней активностью (48.1 и 42.0%).

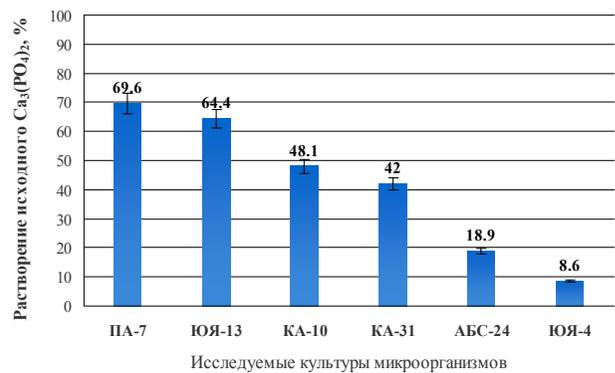


Рис. 3. Степень растворения фосфата кальция исследуемыми изолятами в жидкой среде

Заключение. Из ризосферы растений яблони (*Malus P. Mill*, 1754) и смородины черной (*Ribes nigrum L.*, 1753), произрастающих на территории Астраханской области, выделено 34 бактериальных изолята. Проведение первичного скрининга по степени азотфиксирующей активности позволило отобрать 11 наиболее продуктивных изолятов. В условиях лабораторных опытов установлено, что 9 изолятов показали различную степень фосфатрастворяющей активности на плотных средах, при этом большинство из них способны к мобилизации фосфора преимущественно из неорганических, чем органических соединений. Выявлено, что высокий коэффициент удельной фосфатрастворяющей активности (Кг) характерен для изолятов

КА-31 (6.38) и ЮЯ-13 (2.64), средний – для ПА-7 (0.69). Максимальное содержание фосфат-иона отмечено в культуральной жидкости изолята ПА-7 – 128 мг/дм³, что соответствует мобилизации в среднем 69.6% внесенного Са₃(РО₄)₂. Три исследуемых изолята ЮЯ-13, КА-10 и КА-31 обладают высокой и средней фосфатрастворяющей активностью (растворение внесенного Са₃(РО₄)₂ – составило 64.4, 48.1 и 42.0% соответственно).

В отношении изолятов, которые показали наиболее значимые результаты и выживаемость в условиях *in vitro*, на следующем этапе работ планируется установление видовой принадлежности путем анализа нуклеотидных последовательностей.

Таким образом, использование азотфиксирующих бактерий с фосфатмобилизующими свойствами перспективно для создания биопрепаратов, направленных на обеспечение растений азото- и фосфорсодержащими элементами питания. В дальнейшем в ходе лабораторных и полевых опытов планируется доказать, что наиболее перспективные штаммы, представленные в данном исследовании, способствуют росту растений в условиях аридного климата Астраханской области.

Работа выполнена в рамках Государственного задания «Микроорганизмы аридных зон как основа экобиотехнологий для оздоровления экосистем Нижнего Поволжья», номер государственной регистрации темы: 124041100137-2.

Литература

1. Чайковская Л.А., Овсиенко О.Л. Фосфатмобилизующие микроорганизмы: биоразнообразие, влияние на минеральное питание растений и их продуктивность // Таврический вестник аграрной науки. 2021. № 4(28). С. 159–182. <http://doi.org/10.33952/2542-0720-2021-4-28-159-182>
2. Кузина Е.В., Рафикова Г.Ф., Коршунова Т.Ю. Фосфатсолобилизирующие бактерии рода *Pseudomonas* и эффективность их применения для увеличения доступности фосфора // Известия Уфимского научного центра РАН. 2021. № 3. С. 11–16. <http://doi.org/10.31040/2222-8349-2021-0-3-11-16>
3. Alori E.T., Glick B.R., Babalola O.O. Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture // Front. Microbiol. 2017. V. 8(971). <http://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00971>
4. Кузьмина Л.Ю., Высоцкая Л.Б., Галимзянова Н.Ф., Гильванова Е.А., Рябова А.С., Мелентьев А.И. Новые штаммы фосфатмобилизующих бак-

терий, продуцирующих ауксин, перспективные для сельскохозяйственной биотехнологии // Известия Уфимского научного центра РАН. 2015. № 1. С. 40–46.

5. Mekonnen H., Kibret M. The roles of plant growth promoting rhizobacteria in sustainable vegetable production in Ethiopia // Chem. Biol. Technol. Agric. 2021. V. 8:15. <https://doi.org/10.1186/s40538-021-00213-y>

6. Tariq M.R., Shaheen F., Mustafa S., ALI S., Fatima A., Shafiq M., Safdar W., Sheas M.N., Nameed A., Nasir M.A. Phosphate solubilizing microorganisms isolated from medicinal plants improve growth of mint // Peer J. 2022. 10:e13782. <http://doi.org/10.7717/peerj.13782>

7. Гальперина А.Р., Сопрунова О.Б., Пархоменко А.Н. [и др.] Фосфатмобилизующие микроорганизмы сельскохозяйственных растений аридных экосистем Астраханской области // Теоретическая и прикладная экология. 2024. № 3. С. 107–114. <http://doi.org/10.25750/1995-4301-2024-3-107-114>

8. Практикум по микробиологии / под ред. А.И. Нетрусова. М.: Академия, 2005. 602 с.

9. Нгуен В.Ж., Ву Т.Х., Пыльнев В.В. Выделение и характеристика азотфиксирующего штамма СД1 из почвы чайной плантации провинции Фу Тхо Республики Вьетнам // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. 2017. № 4. С. 137–146.

10. Боев И.В. Микробиология: лабораторный практикум с элементами исследовательской работы. Красноярск, 2017. 56 с.

11. ПНД Ф 14.1:2.4.112-97 Методика измерений массовой концентрации фосфат-ионов в питьевых, поверхностных и сточных водах фотометрическим методом с молибдатом аммония. Технические условия: введ. впервые: дата введения 2011-03-23. М.: Федеральный центр анализа и оценки техногенного воздействия, 2011. 13 с.

12. Мухаматдырова С.Р., Кузина Е.В., Шарипова Ю.Ю. [и др.] Биотехнологический потенциал новых штаммов углеводородокисляющих бактерий // Известия Уфимского научного центра РАН. 2024. № 2. С. 38–47. <http://doi.org/10.31040/2222-8349-2024-0-2-38-47>

13. Бегматов Ш.А. Ассоциативные бактерии засоленных почв и возможность их использования в агробиотехнологиях: специальность 03.02.03 «Микробиология»: дисс. ... канд. биол. наук. М., 2020. 72 с.

14. Белясова Н.А., Игнатовец О.С., Сергиевич Д.С. [и др.] Выделение и характеристика почвенных фосфатмобилизующих микроорганизмов // Вестник Белорусской государственной сельскохозяйственной академии. 2018. № 2. С. 93–97.

15. Жаппар Н.К., Шайхутдинов В.М., Байрон Л.Ж. [и др.] Выделение перспективных штаммов *Vacillus megaterium* и *Vacillus subtilis*, обладающих фосфатмобилизующими и противомикробными свойствами // Вестник Карагандинского университе-

та. Серия «Биология. Медицина. География». 2019. № 4(96). С. 13–19. https://biollogy-medicine-geography-vestnik.ksu.kz/apart/srch/2019_biology_4_96_2019.pdf

References

1. Chajkovskaya L.A., Ovsienko O.L. Fosfatmobilizuyushchie mikroorganizmy: bioraznoobrazie, vliyaniye na mineral'noe pitaniye rasteniy i ih produktivnost' // Tavricheskij vestnik agrarnoy nauki, 2021, no. 4(28), pp. 159-182. <http://doi.org/10.33952/2542-0720-2021-4-28-159-182>
2. Kuzina E.V., Rafikova G.F., Korshunova T.Yu. Fosfatmobilizuyushchie bakterii roda *Pseudomonas* i e'ffektivnost' ix primeneniya dlya uvelicheniya dostupnosti fosfora // Izvestiya Ufimskogo nauchnogo tsentra RAN, 2021, no. 3, pp. 11-16. <http://doi.org/10.31040/2222-8349-2021-0-3-11-16>
3. Alori E.T., Glick B.R., Babalola O.O. Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture // Front. Microbiol., 2017, vol. 8(971). <http://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00971>
4. Kuz'mina L.Yu., Vy'soczka L.B., Galimzyanova N.F., Gil'vanova E.A., Ryabova A.S., Melent'ev A.I. Novy'e shtammy fosfatmobilizuyushchih bakterij, produciruyushchih auksin, perspektivny'e dlya sel'skoxozyajstvennoj biotekhnologii // Izvestiya Ufimskogo nauchnogo tsentra RAN, 2015, no. 1, pp. 40-46.
5. Mekonnen H., Kibret M. The roles of plant growth promoting rhizobacteria in sustainable vegetable production in Ethiopia // Chem. Biol. Technol. Agric, 2021, vol. 8:15 <https://doi.org/10.1186/s40538-021-00213-y>
6. Tariq M.R., Shaheen F., Mustafa S., ALI S., Fatima A., Shafiq M., Safdar W., Sheas M.N., Hameed A., Nasir M.A. Phosphate solubilizing microorganisms isolated from medicinal plants improve growth of mint // Peer J, 2022, 10:e13782. <http://doi.org/10.7717/peerj.13782>
7. Gal'perina A.R., Soprunova O.B., Parxomenko A.N. [i dr.] Fosfatmobilizuyushchie mikroorganizmy sel'skoxozyajstvenny'x rastenij aridny'x e'kosistem Astraxanskoj oblasti // Teoreticheskaya i prikladnaya e'kologiya, 2024, no. 3, pp. 107-114. <http://doi.org/10.25750/1995-4301-2024-3-107-114>
8. Netrusov A.I. Praktikum po mikrobiologii, Moscow: ACADEMA, 2005, 603 p.
9. Nguen V.Zh., Vu T.X., Py'l'nev V.V. Vy'delenie i xarakteristika azotfiksiruyushhego shtamma SD1 iz pochvy chajnoj plantacii provincii Fu Txo Respubliki V'etnam // Izvestiya Timiryazevskoj sel'skoxozyajstvennoj akademii, 2017, no. 4, pp. 137-146.
10. Boer I.V. Mikrobiologiya: laboratorny'j praktikum s e'lementami issledovatel'skoj raboty. Krasnoyarsk, 2017, 56 p.
11. PND F 14.1:2.4.112-97 Metodika izmerenij massovoj koncentracii fosfat-ionov v pit'evyih, poverhnostnyh i stochnyh vodah fotometricheskim metodom s molibdatom ammoniya. Tekhnicheskie usloviya : vved. vpervye: data vvedeniya 2011-03-23. Moscow: Federal'nyj centr analiza i ocenki tekhnogennogo vozdejstviya, 2011, 13 p.
12. Muxamatd'yarova S.R., Kuzina E.V., Sharipova Yu.Yu. [i dr.] Biotekhnologicheskij potencial novy'x shtammov uglevodorodokislyayushchih bakterij // Izvestiya Ufimskogo nauchnogo tsentra RAN, 2024, no. 2, pp. 38-47. <http://doi.org/10.31040/2222-8349-2024-0-2-38-47>
13. Begmatov Sh.A. Associativny'e bakterii zasolenny'x pochv i vozmozhnost' ix is pol'zovaniya v agrobiotekhnologiyax: dis. ... kand. biol. nauk. Moscow, 2020, 72 p.
14. Belyasova N.A., Ignatovecz O.S., Sergievich D.S. [i dr.] Vy'delenie i xarakteristika pochvenny'x fosfatmobilizuyushchih mikroorganizmov // Vestnik Belorusskoj gosudarstvennoj sel'skoxozyajstvennoj akademii, 2018, no. 2, pp. 93-97.
15. Zhappar N.K., Shajhutdinov V.M., Bajron L.Zh., Myrzabaev B.M., Zejnelov K.A., SHibaeva A.K., Ishmuratova M.Yu. Vy'delenie perspektivnyh shtammov *Bacillus megaterium* i *Bacillus subtilis*, obladayushchih fosfatmobiliziruyushchimi i protivomikrobnymi svojstvami // Vestnik Karagandinskogo universiteta. Seriya «Biologiya. Medicina. Geografiya», 2019, no. 4(96), pp. 13-19. https://biollogy-medicine-geography-vestnik.ksu.kz/apart/srch/2019_biology_4_96_2019.pdf


**ASSESSMENT OF THE PHOSPHATE MOBILIZING
ACTIVITY OF RHIZOSPHERIC BACTERIA ISOLATED FROM THE SOILS
OF THE ASTRAKHAN REGION**

© A.N. Parkhomenko¹, D.V. Isakov²

¹Astrakhan State Technical University,
16, ulitsa Tatishcheva, 414056, Astrakhan, Russian Federation

²Center for Laboratory Analysis and Technical Measurements in the Astrakhan region,
113, ulitsa Bakinskaya, 414000, Astrakhan, Russian Federation

Nitrogen and phosphorus are the most important macronutrients that affect the growth, development and yield of plants. Currently, in various types of soils, there is often a shortage of available forms of these elements for plants. An alternative solution to this problem may be the use of bacteria capable of converting nitrogen and phosphorus compounds into forms accessible to plants as a result of their vital activity. Nitrogen-fixing bacteria, which can exhibit a range of beneficial properties, attract special attention. Biologics based on these microorganisms are economical, harmless, capable of self-reproduction and specific to specific conditions of the region and can become an alternative to the use of chemical fertilizers, the level of use of which is steadily increasing worldwide. The purpose of this study was a comparative assessment of the phosphate-mobilizing activity of nitrogen-fixing bacteria on dense and liquid nutrient media. The study of the intensity of nitrogen fixation by the Nessler method allowed us to select 11 of the most productive bacterial isolates for further studies (the concentration of free NH_4^+ in the culture fluid was 10.5–95.9 micrograms/ml). In laboratory experiments in vitro, it was found that only 9 isolates showed a different degree of phosphate-dissolving activity on dense media, while most of them are capable of mobilizing phosphorus mainly from inorganic than organic compounds. It was revealed that high values of K_g are typical for isolates KA-31 (6.38) and YUYA-13 (2.64), the average is for PA-7 (0.69). In a liquid medium containing $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, the maximum content of phosphate anion in the culture liquid of the PA-7 isolate is 128 mg/dm³, which corresponds to the mobilization of 69.6% of the introduced calcium phosphate after 7 days of the experiment. The three studied isolates YUYA-13, KA-10 and KA-31 showed high and medium phosphate-mobilizing activity, dissolving 64.4, 48.1 and 42.0% $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, respectively. The conducted studies made it possible to select 4 isolates of nitrogen-fixing bacteria exhibiting phosphate-mobilizing properties that are promising for the creation of biological products for agricultural purposes in the arid climate of the Astrakhan region.

Keywords: soils, biological products, nitrogen-fixing microorganisms, phosphatmobilization coefficient, phosphate ions.