

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-4-2548>
<https://elibrary.ru/ZBMYDW>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Применение эндофитных микроорганизмов для интенсификации ростовых процессов сельскохозяйственных культур



Е. Р. Фасхутдинова*, Н. Н. Богачёва, Е. Е. Бородина,
А. В. Позднякова, С. А. Лузянин

Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия

Поступила в редакцию: 15.04.2024
Принята после рецензирования: 08.05.2024
Принята к публикации: 04.06.2024

*Е. Р. Фасхутдинова: fashutdinova.liz@yandex.ru,
<https://orcid.org/0000-0001-9711-2145>
Н. Н. Богачёва: <https://orcid.org/0000-0002-4238-5370>
Е. Е. Бородина: <https://orcid.org/0000-0001-6362-7589>
А. В. Позднякова: <https://orcid.org/0000-0002-6854-0850>
С. А. Лузянин: <https://orcid.org/0000-0001-9293-4377>

© Е. Р. Фасхутдинова, Н. Н. Богачёва, Е. Е. Бородина,
А. В. Позднякова, С. А. Лузянин, 2024



Аннотация.

Повышение продуктивности основных сельскохозяйственных культур (пшеницы, ячменя и овса) является актуальной проблемой. Урожайность данных культур во многом зависит от плодородия почвы. Недостаток биогенных веществ в почвах восполняют минеральными удобрениями, которые при неправильном применении неэкологичны и малоэффективны. Обеспечить растения необходимыми питательными элементами способны микроорганизмы. Цель данной работы – выделение эндофитных микроорганизмов, обладающих ростостимулирующими свойствами, а также оценка их влияния на рост пшеницы, ячменя и овса.

Объектами исследования являлись яровая мягкая пшеница сорта «Сибирский Альянс», яровой овес сорта «Марушак», яровой ячмень сорта «Никита» и стандартные штаммы бактерий (*Azospirillum brasilense* В-11094 и *Azotobacter chroococcum* В-8739). Выделенные бактерии идентифицировали с помощью автоматического микробиологического анализатора Vitex 2 Compact. Способность изолятов микроорганизмов продуцировать индолил-3-уксусную и гиббереллиновую кислоты оценивали спектрофотометрическими методами. Способность к фиксации азота штаммами определяли с помощью Rapid N Cube. Способность изолятов солибилизировать фосфаты тестировали на среде, содержащей кальций фосфорнокислый. Влияние наиболее перспективных штаммов на сельскохозяйственные культуры оценивали в лабораторных условиях.

Выделено и идентифицировано 7 изолятов эндофитных микроорганизмов, таких как *Pantoea allii* Tri, *Bacillus subtilis* Tri 2, *Bacillus subtilis* Ave 1, *Pantoea allii* Ave 2, *Bacillus subtilis* Hor 1, *Bacillus subtilis* Hor 2, *Bacillus subtilis* Hor 3. Изучены ростостимулирующие свойства штаммов и отобраны наиболее перспективные. Штамм *Bacillus subtilis* Ave 1 продуцировал 7100 мкг/мл индолил-3-уксусной и 343 мкг/мл гиббереллиновой кислот, фиксировал 790 мкг/мл азота, солибилизировал фосфаты (индекс 1,60). *Bacillus subtilis* Hor 1 демонстрировал способность к синтезу 4490 мкг/мл индолил-3-уксусной и 409 мкг/мл гиббереллиновой кислот, фиксировал азот в количестве 760 мкг/мл, а также солибилизировал фосфаты (индекс 1,44). Лабораторная апробация штаммов показала, что наибольшей ростостимулирующей активностью обладает штамм *Bacillus subtilis* Ave 1.

Выделенный в ходе работы штамм обладает способностью к синтезу фитогормонов, фиксирует атмосферный азот и солибилизировать фосфаты. Лабораторная апробация показала, что штамм увеличивает длину побега и корня пшеницы и ячменя, а также повышает всхожесть, энергию прорастания и длину побега у овса. Это обуславливает высокие перспективы применения выделенного штамма в сельском хозяйстве.

Ключевые слова. Овес, пшеница, ячмень, эндофитные микроорганизмы, *Bacillus*, *Pantoea*, *Azotobacter*, *Azospirillum*

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания по теме «Исследование потенциала ростостимулирующих бактерий для повышения агрономической биофортификации пшеницы» (шифр FZSR-2024-0009).

Для цитирования: Применение эндофитных микроорганизмов для интенсификации ростовых процессов сельскохозяйственных культур / Е. Р. Фасхутдинова [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 4. С. 820–836. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-4-2548>

Effect of Endophytic Microorganisms on Growth Rate of Crops



Elizaveta R. Faskhutdinova*, Natalia N. Bogacheva, Ekaterina E. Borodina, Anna V. Pozdnyakova, Sergey L. Luzyanin

Kemerovo State University, Kemerovo, Russia

Received: 15.04.2024
Revised: 08.05.2024
Accepted: 04.06.2024

*Elizaveta R. Faskhutdinova: faskhutdinova.liz@yandex.ru,
<https://orcid.org/0000-0001-9711-2145>
Natalia N. Bogacheva: <https://orcid.org/0000-0002-4238-5370>
Ekaterina E. Borodina: <https://orcid.org/0000-0001-6362-7589>
Anna B. Pozdnyakova: <https://orcid.org/0000-0002-6854-0850>
Sergey L. Luzyanin: <https://orcid.org/0000-0001-9293-437>

© E.R. Faskhutdinova, N.N. Bogacheva, E.E. Borodina, A.B. Pozdnyakova, S.L. Luzyanin, 2024



Abstract.

Increasing the yield of wheat, barley, and oats is a pressing issue. It largely depends on soil fertility. Mineral fertilizers, however, may be ineffective and unsustainable. As a result, microorganisms seem to be a promising alternative. The authors isolated endophytic microorganisms with growth-stimulating properties and assessed their effect on the growth rate of wheat, barley, and oats in laboratory conditions.

The research involved spring soft wheat of the Sibirsky Alyans variety, spring oats of the Maruchak variety, spring barley of the Nikita variety, and standard bacterial strains (*Azospirillum brasilense* B-11094, *Azotobacter chroococcum* B-8739). The isolated bacteria were identified using a Vitex 2 Compact automatic microbiological analyzer. The production potential for indole-3-acetic and gibberellic acids was assessed spectrophotometrically. The nitrogen fixation potential was determined using a Rapid N Cube. The phosphate-solubilizing potential was tested on a calcium phosphate medium. The effect of the most promising strains on the growth rate was assessed in laboratory conditions.

Seven isolates of endophytic microorganisms were identified as *Pantoea allii* Tri, *Bacillus subtilis* Tri 2, *Bacillus subtilis* Ave 1, *Pantoea allii* Ave 2, *Bacillus subtilis* Hor 1, *Bacillus subtilis* Hor 2, and *Bacillus subtilis* Hor 3. The most promising growth promoters ranged as follows. *Bacillus subtilis* Ave 1 fixed 790 µg/mL nitrogen, solubilized phosphates with index 1.60, and produced 7100 µg/mL indolyl-3-acetic acid and 343 µg/mL gibberellic acid. *Bacillus subtilis* Hor 1 fixed 760 µg/mL nitrogen, solubilized phosphates with index 1.44, and synthesized 4490 µg/mL indolyl-3-acetic acid and 409 µg/mL gibberellic acid. *Bacillus subtilis* Ave 1 demonstrated the greatest growth-stimulating activity.

Bacillus subtilis Ave 1 could synthesize phytohormones, fix atmospheric nitrogen, and solubilize phosphates, which indicated good agricultural prospects. The strain increased the length of shoots and roots in wheat and barley, as well as boosted germination and shoot length in oats.

Keywords. Oats, wheat, barley, endophytic microorganisms, *Bacillus*, *Pantoea*, *Azotobacter*, *Azospirillum*

Funding. The research was part of State Assignment FZSR-2024-0009: Potential growth-stimulating bacteria in agronomic biofortification of wheat.

For citation: Faskhutdinova ER, Bogacheva NN, Borodina EE, Pozdnyakova AV, Luzyanin SL. Effect of Endophytic Microorganisms on Growth Rate of Crops. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(4):820–836. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-4-2548>

Введение

Сельское хозяйство является сложной и трудоемкой отраслью, решающее значение в которой отводится производству зерна [1]. К основным злаковым культурам, возделываемым во всем мире, относят пшеницу (*Triticum aestivum* L.), ячмень (*Hordeum vulgare* L.) и

овес (*Avena sativa* L.) [2, 3]. Пшеница является одной из первых одомашненных злаковых культур, традиционно используемой в качестве основного источника питания в регионах с ограниченными возможностями для выращивания других злаковых культур. Ячмень обыкновенный – четвертая по объему производства

злаковая культура после кукурузы, риса и пшеницы [4]. В настоящее время овес является ключевым компонентом в рационе многих людей [5]. Это второстепенная, универсальная цельнозерновая культура, используемая в пищу, кормах для животных и непищевых продуктах [6]. Овес выращивается во всем мире и занимает седьмое место в мировой статистике производства злаковых культур [7].

В связи со стремительным ростом численности населения увеличивается спрос на продовольствие и сельскохозяйственную продукцию [8, 9]. Для борьбы с возможной угрозой нехватки продуктов питания и обеспечения продовольственной безопасности используются различные способы повышения урожайности и качества сельскохозяйственных культур.

Одним из основных факторов, влияющих на урожайность злаковых культур, является плодородие почв [10]. Наиболее распространенным методом современной сельскохозяйственной практики для повышения плодородия почв и урожайности культур является внесение удобрений – источников питательных веществ для растений. Азот, фосфор, калий, кальций, сера, магний, а также различные гормоны контролируют рост и развитие сельскохозяйственных культур и положительно влияют на их урожайность. Азот, фосфор и калий являются наиболее значимыми макроэлементами, которые необходимы сельскохозяйственным культурам в большом количестве.

Таким образом, перед учеными стоит задача разработать более безопасные и эффективные способы увеличения урожайности сельскохозяйственных культур за счет разработки новых видов удобрений. В связи с высокими требованиями к качеству сельскохозяйственной продукции возрастает роль биологизации сельского хозяйства [11]. Устойчивость системы сельского хозяйства может быть достигнута за счет разработки и использования биоудобрений.

Биоудобрения – продукты, содержащие один или несколько видов микроорганизмов, которые способны переводить важные питательные вещества из непригодной для усвоения формы в пригодную, тем самым поддерживая рост растений [8, 12]. Как правило, в качестве микроорганизмов используются штаммы, обладающие азотофиксирующей, фосфор- и калий-солюбилизующей активностью, а также способностью продуцировать фитогормоны [13]. Применение эндофитов (непатогенных микроорганизмов, обитающих во внутриклеточных тканях растений-хозяев) в качестве биоудобрений может быть лучшим подходом к улучшению микробного статуса почвы, тем самым влияя на доступность питательных веществ и разложение органического вещества [14]. Эндофиты способствуют росту растений-хозяев при помощи различных механизмов: повышение доступности и фиксации биогенных элементов (фиксация азота, солюбилизация фосфора, калия, цинка и др.); антагонистическое действие в отношении фитопатогенов (синтез циани-

дов, антибиотиков, литических ферментов, летучих соединений); синтез ростостимулирующих веществ (гиббереллиновой кислоты, индоллил-3-уксусной кислоты и др.) [15–18].

Так как азот является одним из важнейших питательных компонентов растений, особый интерес ученых вызывают азотофиксирующие микроорганизмы. Они подразделяются на симбиотические и несимбиотические [19]. К симбиотическим микроорганизмам относятся представители семейства *Rhizobiaceae*, которые образуют симбиотические отношения с бобовыми растениями. К несимбиотическим микроорганизмам относятся свободноживущие и эндофитные формы микроорганизмов, такие как *Cyanobacteria*, *Azospirillum*, *Azotobacter* и др.

Azospirillum – ризобактерия, стимулирующая рост и развитие растений (plant growth-promoting rhizobacteria – PGPR-бактерия), колонизируя поверхности корней и стеблей, а также внутренние ткани корня без образования специализированных структур [20]. Помимо этого, представители *Azospirillum* могут расщеплять сложные соединения, делая их доступными для роста растений [21]. Наиболее известны представители этого рода в качестве компонентов биоудобрений, успешно применяемых в сельском хозяйстве. Несмотря на то что наиболее распространенным преимуществом *Azospirillum* является ее способность фиксировать азот, все большее число исследований описывает другие свойства, которые подразумевают стимулирование роста растений. Одним из основных свойств *Azospirillum* является синтез фитогормонов и других соединений, включая ауксины, цитокинины, гиббереллины, абсцизовую кислоту, этилен и салициловую кислоту [22]. Некоторые штаммы *Azospirillum* могут растворять неорганический фосфор, делая его более доступным для растений и приводя к более высоким урожаям [23]. Имеются сообщения о том, что *Azospirillum* снижает негативное воздействие абиотического стресса, засухи и засоления на растения [24]. В работе R. Kizilkaya штаммы *Azotobacter chroococcum*, выделенные из ризосферы, оказывали положительное влияние на урожайность и концентрацию азота в *Triticum aestivum* [25]. С. Dal и соавторы изучили влияние бактериального консорциума (*Azospirillum* spp. + *Azoarcus* spp. + *Azorhizobium* spp.) и двух других грибово-бактериальных консорциумов (*Rhizophagus irregularis* + *Azotobacter vinelandii* и *R. irregularis* + *Bacillus megaterium* + *Frateuria aurantia*) на *Triticum aestivum* L. Установлено, что обработка семян консорциумами позволила значительно улучшить рост растений и накопление азота во время удлинения стеблей и колосения [26].

Azotobacter – свободноживущие, аэробные, фотоавтотрофные несимбиотические бактерии, принадлежащие к семейству *Azobacteriaceae* [19]. Обычно они присутствуют в нейтральных и щелочных почвах. *A. chroococcum* является наиболее часто встречаю-

щимся видом на пахотных почвах. Другими зарегистрированными видами являются *A. vinelandii*, *Azotobacter beijerinckii*, *Azotobacter insignis* и *Azotobacter macrocytogenes* [27]. Представители данного рода могут фиксировать атмосферный азот, выделять растительные гормоны, солюбилизировать фосфаты и противодействовать патогенам растений [28]. Наиболее известными видами рода *Azotobacter* являются *A. vinelandii*, *A. chroococcum*, *A. beijerinckii*, *A. paspali*, *A. armeniacus* и др. В работе S. H. T. Harper и соавторов рассматривается влияние штамма *A. chroococcum* на *Hordeum vulgare* L. Показано, что фильтрат культуры *A. chroococcum* стимулирует удлинение корней проростков [29]. U. K. Bageshwar с соавторами инокулировали семена пшеницы штаммом *A. chroococcum* CBD15, который был получен из почвы. Результаты показали, что с присутствием микроорганизма происходит лучшая усвояемость азота, а также *A. chroococcum* CBD15 продуцирует индолил-3-уксусную кислоту [30].

В таблице 1 представлены образцы растений и микроорганизмов, выделенных из них, которые используют для создания биоудобрений.

Согласно литературным данным, злаковые культуры являются перспективным источником для получения бактериальных эндофитов, инокулянты которых предпочтительно использовать для создания биоудобрений. Использование микроорганизмов может снизить потребность в применении химических удобрений, повысить устойчивость и толерантность растений к стрессу и способствовать экологизации сельского хозяйства [46, 47].

Большинство эндофитов происходит из эпифитных сообществ, принадлежащих ризосфере, филлосфере или другим частям растений, но некоторые из них могут передаваться через семена [54]. Семенные эндофиты приспособлены к симбиотическому жизненному циклу внутри растений, вертикально передаваемому за счет конкурентоспособности и

Таблица 1. Бактериальные эндофиты, стимулирующие рост растений

Table 1. Growth-stimulating bacterial endophytes

Растение и зона выделения микроорганизмов		Микроорганизм	Свойство	Источники
<i>Triticum aestivum</i> L.	Корневая зона	<i>Azospirillum brasilense</i>	Фиксация азота	[31]
	Ризосфера	<i>Azospirillum</i>	Синтез фитогормонов	[32]
	Корневая зона	<i>Azospirillum brasilense</i> FP2	Синтез фитогормонов	[33]
	Ризосфера	<i>Azotobacter chroococcum</i>	Солюбилизация, синтез фитогормонов	[34]
<i>Triticum aestivum</i> L.	Корневая зона	<i>Bacillus megaterium</i> ZE32, <i>Bacillus megaterium</i> ZR19, <i>Bacillus subtilis</i> ZE15, <i>Bacillus subtilis</i> ZR3	Солюбилизация фосфора	[35, 36]
<i>Hordeum vulgare</i> L.	Ризосфера и корневая зона	<i>Erwinia</i> sp. EU-B2SNL1	Фиксация азота	[37]
		<i>Chryseobacterium arthrosphaerae</i> EU-LWNA-37	Солюбилизация фосфора	
		<i>Pseudomonas gessardii</i> EU-MRK-19	Солюбилизация калия	
<i>Triticum aestivum</i> L.	Корневая зона, стебель, лист и семечко	<i>Bacillus aryabhattai</i> , <i>B. stratosphericus</i> , <i>B. simplex</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> , <i>Ewingella americana</i> , <i>Leclercia adecarboxylata</i> , <i>Paenibacillus polymyxa</i> , <i>Pantoea agglomerans</i> , <i>Pan. anthophila</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Ps. kribbensis</i> , <i>Ps. oryzihabitans</i> , <i>Ps. putida</i> , <i>Ps. rhodesiae</i> и <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Солюбилизация, синтез фитогормонов	[38]
<i>Saccharum officinarum</i> L.	Ризосфера и корневая зона	<i>Azospirillum amazonense</i>	Фиксация азота	[39]
		<i>Acetobacter diazotrophicus</i>		[40]
<i>Zea mays</i> L.	Корневая зона	<i>Azospirillum lipoferum</i>	Фиксация азота	[41]
<i>Oryza sativa</i> L., <i>Zea mays</i> L., <i>Triticum aestivum</i> L.	Корневая зона	<i>Azospirillum lipoferum</i> 4B	Фиксация азота, синтез фитогормонов	[42]
<i>Oryza sativa</i> L.	Ризосфера и корневая зона	<i>Azospirillum irakense</i>	Фиксация азота	[43]
<i>Arabidopsis thaliana</i> L. Heynh.	Ризосфера и корневая зона	<i>Azospirillum brasilense</i> Sp245	Синтез фитогормонов	[44]
<i>Gossypium</i> L., <i>Triticum aestivum</i> L.	Ризосфера	<i>Azotobacter</i> spp.	Синтез фитогормонов	[45]

способности выживать в большинстве сред за пределами растения. Этот тип передачи благоприятствует мутуализму против патогенности. Эндосимбиоз семян – это жизненно важная взаимосвязь, которая обеспечивает повышенную жизнеспособность, всхожесть и устойчивость семян и, таким образом, общее улучшение роста в стрессовых условиях [55]. Эндифиты семян могут обладать способностью усиливать всхожесть в условиях загрязнения почвы тяжелыми металлами [54]. Во время прорастания семена склонны к заражению почвенными патогенами. Эндифитные бактерии, переносимые семенами, действуют как компетентные агенты биоконтроля во время формирования проростков [56]. Механизмы индукции защиты, обеспечиваемой эндифитами растения-хозяина, зависят от свойств эндифитов, например индукции активных форм кислорода, синтеза антимикробных метаболитов, синтеза липопептидов, выработки растительных гормонов. Эндифиты семян относительно не изучены, но привлекают внимание ученых как перспективный источник биоудобрений.

Цель данной работы – выделение эндифитных микроорганизмов, обладающих способностью стимулировать и улучшать питание растений, из семян злаковых культур, а также оценка ростостимулирующих свойств изолятов.

Объекты и методы исследования

В качестве объектов исследования использовали семена злаковых культур: яровая мягкая пшеница сорта «Сибирский Альянс» (рис. 1а), яровой овес сорта «Маручак» (рис. 1б), яровой ячмень сорта «Никита» (рис. 1с), предоставленные Кемеровским научно-исследовательским институтом сельского хозяйства – филиалом Сибирского федерального научного центра агробиотехнологий РАН, г. Кемерово.

Дизайн эксперимента приведен на рисунке 2 и состоял из трех этапов: выделение эндифитных бактерий из семян злаковых культур; анализ ростостимулирующих

свойств выделенных штаммов; лабораторная апробация перспективных штаммов.

Выделение эндифитных бактерий из семян злаковых культур осуществляли согласно методике R. Sa [48]. Семена злаковых культур стерилизовали 70 % этиловым спиртом (Кемеровская фармацевтическая фабрика, Россия) и 3 % раствором гипохлорита натрия (ХимКомпонент, Россия; процент активного хлора 2,86 %) с экспозицией по 3 мин. После каждого дезинфицирующего средства осуществляли 3-кратную промывку семян стерильной дистиллированной водой. Для приготовления суспензии 1 г измельченных, стерилизованных семян добавляли в 10 мл стерильной воды, выдерживали в шейкер-инкубаторе LSI-3016R (Daihan Labtech, Южная Корея) в течение 2 ч при температуре 28 ± 2 °C, 110 об/мин.

Для выделения микроорганизмов, способных выживать на бедных почвах, 1 мл суспензии переносили на жидкую среду Difco M9 Minimal Salts, 5× (Le Pont de Claix, Франция). Культивировали при 28 ± 2 °C, 110 об/мин в течение 72 ч на шейкер-инкубаторе.

В связи с вышесказанным важно выделить микроорганизмы, устойчивые к солевому стрессу. Для этого брали 5 % культуральной жидкости от объема питательной среды, выращенной на минимальной солевой среде, и культивировали на бульоне Лурия-Бертани в модификации Миллера (далее – бульон LB) (Фарма Групп, Россия) с добавлением 6 г/л хлорида натрия [49]. Культивировали при условиях, указанных выше.

Для выделения микроорганизмов, устойчивых к химическим препаратам, 5 % (от объема питательной среды) культуральной жидкости, полученной на предыдущем этапе, вносили в бульон LB с добавлением хизалофоп-П-этила (Лабтех, Россия), метсульфурон-метила (гербициды) (HPC Standards, Германия) по 3 мл/л и имидаклоприда (инсектицид) (Оптимум, Россия) по 3 г/л. Культивирование вели при условиях, указанных выше.

Чистые культуры получали методом глубинного посева 1 мл приготовленной суспензии на среде LB.

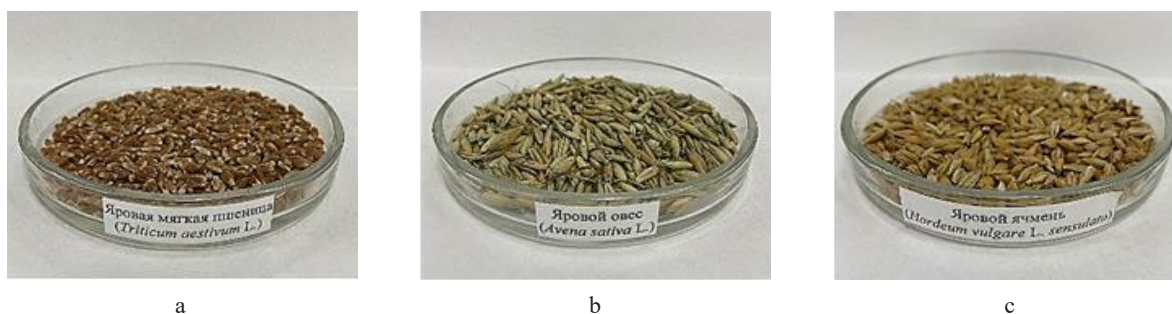


Рисунок 1. Объекты исследования: а – яровая мягкая пшеница сорта «Сибирский Альянс», б – яровой овес сорта «Маручак», с – яровой ячмень сорта «Никита»

Figure 1. Research samples: а – spring soft wheat of the Sibirsky Alyans variety, б – spring oats of the Maruchak variety, с – spring barley of the Nikita variety

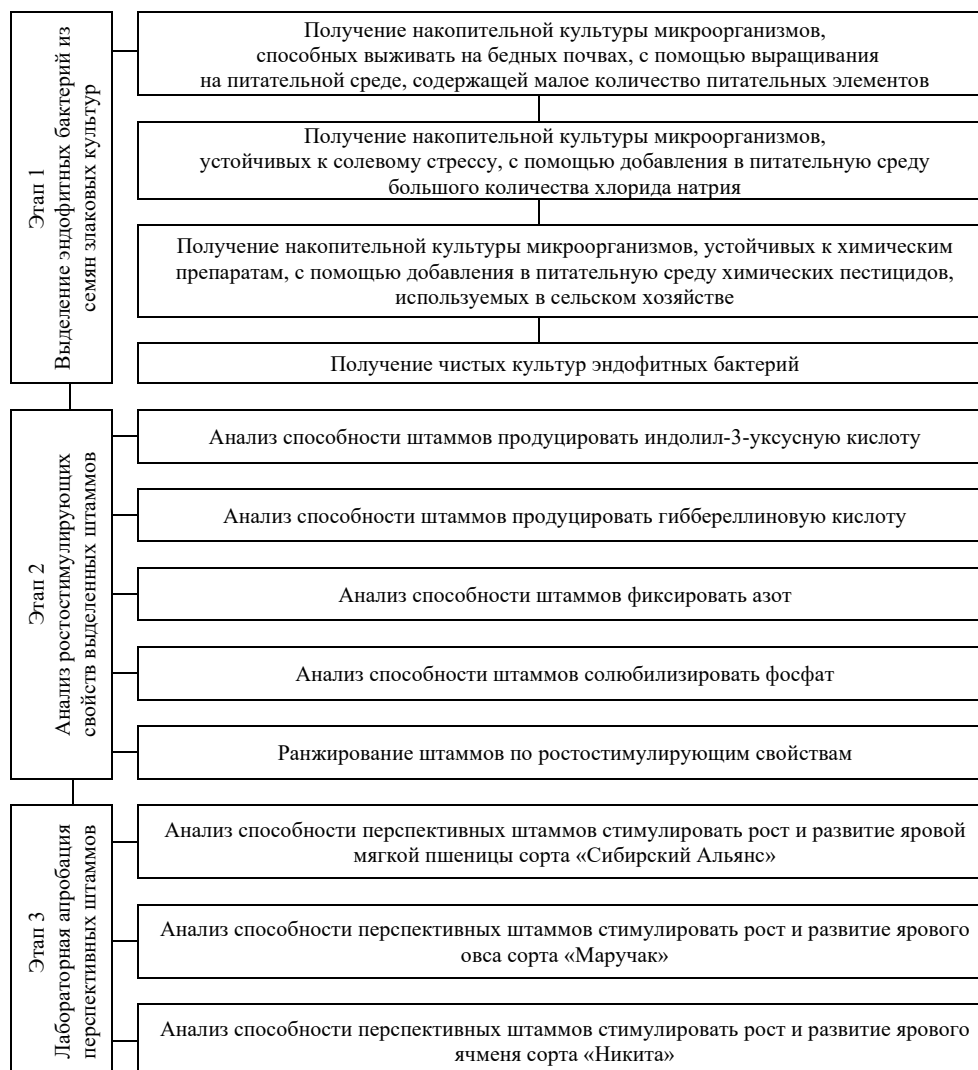


Рисунок 2. Дизайн эксперимента

Figure 2. Experiment scheme

Культивирование вели в термостате ТСО-1/80 СПУ (Смоленское СКТБ СПУ, Россия) при температуре 28 ± 2 °C в течение 48 ч [50]. Далее делали 5 пересевов истощающим штрихом на агаризованную среду Лурия-Бертани в модификации Миллера [51]. Чистоту выделенных штаммов бактерий контролировали микроскопически.

Для изучения культуральных признаков штаммов (цвет, форма, края, профиль, оптические свойства поверхности и размер колоний) производили посев суспензии чистых культур с низкой концентрацией на агаризованную среду LB с использованием шпателя Дригальского. Культивировали при температуре 28 ± 2 °C в течение 24 ч.

Для определения морфологических признаков фиксированный мазок окрашивали метиленовым голубым и микроскопировали с объективом 90× или 100× [52]. Проводили окраску по методу Грама с помощью КОН-

теста для определения биохимических свойств клеточной стенки бактерий [53].

Идентификацию выделенных бактерий проводили на автоматическом микробиологическом анализаторе Vitex 2 Compact (BioMerieux, Франция) с использованием карт ID-GP (грамположительные микроорганизмы) и ID-GN (грамотрицательные микроорганизмы). Бактериальные культуры выращивали на агаризованной питательной среде – колумбийском агаре с кровью (BioVitrum, Швеция) в течение 48 ч при 28 ± 2 °C, затем готовили суспензию штаммов в 2 мл дистиллированной воды до оптической плотности 2,70–3,30 по шкале МакФарланда с помощью денситометра Densichek plus (BioMerieux, Франция) [54].

Для выявления способности микроорганизмов к синтезу индолил-3-уксусной и гибберелиновой кислот готовили суспензию бактерий согласно методике, указанной выше, при этом оптическую плотность

бактериальных культур доводили до 0,8–1,0 по шкале МакФарланда. Затем 1 мл суспензии переносили в 10 мл бульона LB. Культивирование осуществляли в шейкер-инкубаторе при условиях, указанных выше, в течение 48 ч. Полученную суспензию центрифугировали при 8000 об/мин в течение 30 мин для отделения клеток от культуральной жидкости.

Чтобы обнаружить содержание индолил-3-уксусной кислоты 1 мл супернатанта смешивали с 1 мл реактива Сальковского. Выдерживали в темном месте при комнатной температуре в течение 30 мин. Концентрацию индолил-3-уксусной кислоты определяли по спектроскопическому поглощению (535 нм) в соответствии со стандартной кривой, полученной с различными концентрациями стандартного раствора индолил-3-уксусной кислоты (Диа-М, Россия) с концентрацией от 1 до 40 мг/мл [17].

Для вычисления количества синтезируемой гиббереллиновой кислоты к 2 мл культуральной жидкости добавляли по 280 мкл 1 М раствора ацетата цинка и 10,6 % раствора ферроцианида III калия, энергично встряхивали. Центрифугировали в течение 10 мин при 4500 об/мин. Затем смешивали полученный супернатант с 30 % соляной кислотой в соотношении 1:1 и выдерживали в течение 75 мин. Оптическую плотность измеряли по отношению к 5 % соляной кислоте на спектрофотометре UV 1800 (Shimadzu, Япония) при длине волны 254 нм. Количество синтезируемой гиббереллиновой кислоты определяли по калибровочному графику стандартного раствора гиббереллиновой кислоты (Диа-М, Россия) в пределах от 200 до 1200 мкг/мл [55].

Для оценки способности выделенных микроорганизмов фиксировать азот использовали методику, описанную в работе Ю. Р. Серазетдиновой с соавторами [56]. Бактериальную суспензию готовили аналогично способу, описанному в методике определения способности к синтезу гиббереллиновой и индолил-3-уксусной кислот, на жидкой питательной среде следующего состава, г/л: сахароза (Сигма Тек, Россия) – 20,0; магний сернокислый (Chem-ех, Россия) – 5,0; калий фосфорнокислый 2-замещенный (Chem-ех, Россия) – 1,0; натрий молибденовокислый (ХимРеактив, Россия) – 0,005; натрий хлористый (ЛенРеактив, Россия) – 5,0; железо (II) сернокислое (ХимРеактив, Россия) – 0,01; кальций углекислый

(ХимРеактив, Россия) – 2,0. Культивировали при температуре 28 ± 2 °C и скорости вращения 110 об/мин в течение 48 ч. Для отделения клеток культуральную жидкость центрифугировали при 8000 об/мин в течение 30 мин. Количество азота в бесклеточной культуральной жидкости определяли при помощи анализатора азота Rapid N Cube (Elementar, Германия).

Для определения способности к солюбилизации фосфатов суточную культуру исследуемых бактерий точно высевали на среду следующего состава, г/л: глюкоза (Сигма Тек, Россия) – 20,0; марганец (II) сернокислый (ХимРеактив, Россия) – 0,01; кальций фосфорнокислый (Chem-ех, Россия) – 5,0; натрий хлористый – 0,2 г/л; железо (III) сернокислое (ЛенРеактив, Россия) – 0,01; магний сернокислый – 0,1; агар бактериологический (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия) – 15,0. Культивировали при 28 ± 2 °C в течение 96 ч. [57]. Для измерения количественного показателя определяли эффективность солюбилизации фосфата ($\text{Эф}_{\text{сф}}$, %) по формуле:

$$\text{Эф}_{\text{сф}} = \frac{D_{\text{к+а}}}{D_{\text{к}}} \times 100$$

где $D_{\text{к+а}}$ – диаметр колонии вместе с ареолом, см; $D_{\text{к}}$ – диаметр колонии, см.

Ранжирование показателей. Для отбора перспективных микроорганизмов необходимо ранжировать показатели, отвечающие за стимулирование роста и развития растений [58]. Значимость показателей представлена в таблице 2, баллы – в таблице 3.

Лабораторная апробация перспективных штаммов проводилась в соответствии с методикой, описанной в раннее опубликованной работе [59].

С целью сравнения и оценки биологической активности выделенных штаммов микроорганизмов исполь-

Таблица 2. Значимость показателей PGP-свойств бактерий

Table 2. PGP properties of bacteria: significance

Показатель	Значимость
Синтез ИУК	0,15
Синтез ГК	0,15
Фиксация азота	0,50
Солюбилизация фосфора	0,20

Таблица 3. Балльная оценка показателей PGP-свойств бактерий

Table 3. PGP properties of bacteria: score

Показатель	Балл				
	1	2	3	4	5
Синтез ИУК, мкг/мл	менее 999	1000–2999	3000–4999	5000–6999	7000–9000
Синтез ГК, мкг/мл	менее 199	200–399	400–649	650–899	900–1200
Фиксация азота, мкг/л	менее 199	200–349	350–499	500–649	650–800
Солюбилизация фосфора, %	менее 0,99	1,00–1,09	1,10–1,29	1,30–1,49	1,50–1,70

зовали стандартные штаммы бактерий, предоставленные Национальным биоресурсным центром Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов НИЦ «Курчатовский институт»:

– *Azspirillum brasilense* В-11094. Штамм выделен из корней росички лежачей (*Digitaria decumbens* L.) в Бразилии. Штамм характеризуется способностью к фиксации атмосферного азота, а также продуцированию полисахаридов;

– *Azotobacter chroococcum* В-8739. Штамм характеризуется способностью к фиксации атмосферного азота.

Все исследования проводились в 3-кратной повторности. Полученные значения данных выражали как среднее значение трех измерений со стандартным отклонением. Анализ статистических данных осуществляли при помощи Microsoft Office Excel 2007. Статистический анализ полученных данных проводили

с помощью одномоментного парного критерия Стьюдента по каждой паре интересов [60]. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$. Результаты исследования активности выделенных микроорганизмов оценивали с помощью анализа ANOVA с апостериорным критерием Шеффе.

Результаты и их обсуждение

Из образцов сельскохозяйственных культур было выделено 7 микроорганизмов: из пшеницы *Triticum* L. – Tri 1, Tri 2; из овса *Avena sativa* L. – Ave 1, Ave 2; из ячменя *Hordeum* L. – Hor 1, Hor 2, Hor 3. Культуральные и морфологические признаки представлены в таблице 4.

Рост исследуемых микроорганизмов на чашках Петри представлен на рисунке 3.

По результатам морфологического исследования (табл. 4) выявлено, что наибольшее количество мик-

Таблица 4. Культуральные и морфологические признаки выделенных микроорганизмов

Table 4. Cultural and morphological properties of isolates

Номер микроорганизма	Признаки	
	Культуральные	Морфологические
Tri 1	Колонии желтые, масляные колонии округлой формы с ровными краями, плоские, диаметром в среднем 1,0 мм	Бациллы – в среднем 0,788×0,331 мкм, грамотрицательные
Tri 2	Колонии прозрачные, глянцевые, округлой формы с ровными краями, приподнятые, диаметром в среднем 2,5 мм	Бациллы – в среднем 1,108×0,520 мкм, грамположительные
Ave 1	Колонии белого цвета, масляные, округлой формы с ровными краями, плоские, диаметром в среднем 2,0 мм	Бациллы – в среднем 0,716×0,266 мкм, грамположительные
Ave 2	Колонии желтые, глянцевые, приподнятые, округлые с ровными краями, диаметром в среднем 1,0 мм	Бациллы – в среднем 0,716×0,352 мкм, грамотрицательные
Hor 1	Колонии белые, масляные, округлой формы с ровными краями, приподнятые, диаметром в среднем 1,5 мм	Бациллы – в среднем 0,759×0,328 мкм, грамположительные
Hor 2	Колонии белые, глянцевые, приподнятые, округлой формы с ровными краями, диаметром в среднем 2,0 мм	Бациллы – в среднем 0,809×0,451 мкм, грамположительные
Hor 3	Колонии белые, глянцевые, выпуклые, округлые с ровными краями, диаметром в среднем 2,0 мм	Бациллы – в среднем 0,750×0,344 мкм, грамположительные

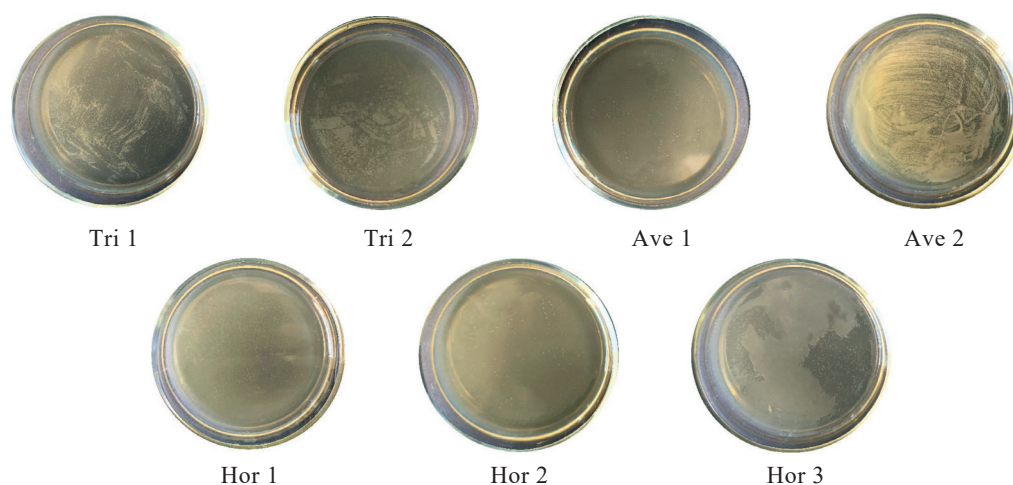


Рисунок 3. Рост выделенных микроорганизмов в чашке Петри на агаризованной среде LB

Figure 3. Isolates in a Petri dish on LB agar medium

роорганизмов являются грамположительными, за исключением Tri 1, Ave 2. Результаты исследования биохимических свойств выделенных микроорганизмов представлены в таблицах 5 и 6.

По результатам проведенных исследований выявили принадлежность штаммов: Tri 1 – *Pantoea allii*

(с вероятностью 95 %); Tri 2 – *Bacillus subtilis* (с вероятностью 90 %); Ave 1 – *Bacillus subtilis* (с вероятностью 96 %); Ave 2 – *Pantoea allii* (с вероятностью 98 %); Hor 1 – *Bacillus subtilis* (с вероятностью 94 %); Hor 2 – *Bacillus subtilis* (с вероятностью 89 %); Hor 3 – *Bacillus subtilis* (с вероятностью 85 %).

Таблица 5. Биохимические свойства грамположительных микроорганизмов

Table 5. Biochemical properties of Gram-positive microorganisms

№	Субстрат	Номер микроорганизма				
		Tri 2	Ave 1	Hor 1	Hor 2	Hor 3
1	D-амигдалин	–	–	–	–	–
2	Фосфоинозитид-специфическая фосфолипаза C	–	–	–	–	–
3	D-ксилоза	–	–	–	–	–
4	Аргининдигидролаза 1	–	–	–	–	–
5	β -галактозидаза	–	+	+	+	–
6	α -глюкозидаза	+	+	–	+	+
7	Ala-Phe-Pro Ариламидаза	–	–	–	–	–
8	Циклодекстрин	–	–	–	–	–
9	L-аспартат-ариламидаза	–	–	–	–	–
10	β -галактопиранозидаза	+	+	+	+	+
11	α -маннозидаза	–	–	–	–	–
12	Фосфатаза	–	–	–	–	–
13	Лейцинариламидаза	–	–	–	–	–
14	L-пролин ариламидаза	–	–	–	–	–
15	β -глюкуронидаза	+	+	+	+	+
16	α -галактозидаза	+	+	+	+	–
17	L-пирролидонилариламидаза	–	–	–	–	–
18	β -глюкуронидаза	+	+	+	+	+
19	Аланинариламидаза	–	–	–	–	–
20	Тирозин ариламидаза	–	–	–	–	–
21	D-сорбит	+	+	+	+	+
22	Уреаза	+	+	+	+	+
23	Устойчивость к полимиксину b	–	–	–	–	–
24	D-галактоза	–	–	–	–	–
25	D-рибоза	–	–	–	–	–
26	L-лактатное подщелачивание	–	–	–	–	–
27	Лактоза	–	–	–	–	–
28	N-ацетил-D-глюкозамин	–	–	–	–	–
29	D-мальтоза	–	–	–	–	–
30	Устойчивость к бацитрацину	–	–	–	–	–
31	Устойчивость к новобиоцину	–	–	–	–	–
32	Рост в присутствии 6,5 % NaCl	–	–	–	–	–
33	D-маннитол	+	+	+	+	+
34	D-манноза	–	–	–	–	–
35	Метил-В-Дглюкопиранозид	–	–	–	–	–
36	Пуллулан	–	–	–	–	–
37	D-раффиноза	–	–	–	–	–
38	Чувствительность к вибриостатику O/129	–	–	–	–	–
39	Салицин	–	–	–	–	–
40	Сахароза	+	+	+	+	+
41	D-трегалоза	–	–	–	–	–
42	Аргининдигидролаза 2	–	–	–	–	–
43	Резистентность к оптохину	–	–	–	–	+

Таблица 6. Биохимические свойства грамотрицательных микроорганизмов

Table 6. Biochemical properties of Gram-negative microorganisms

№	Субстрат	Номер микроорганизма		№	Субстрат	Номер микроорганизма	
		Tri 1	Ave 2			Tri 1	Ave 2
1	Ala-Phe-Pro-ариламидаза	–	–	25	Сахароза	+	+
2	Адонитол	+	+	26	D-тагатоza	–	–
3	L-пирролидонилиариламидаза	+	+	27	D-трегалоза	+	+
4	L-арабитол	–	–	28	Цитрат (натрия)	–	–
5	D-целлобиоза	–	–	29	Малонат	+	+
6	β -галактозидаза	+	+	30	5-кето-D-глюконат	+	+
7	Продуцирование H ₂ S	–	–	31	L-лактатное подщелачивание	+	+
8	β -N-ацетилглюкозаминидаза	–	–	32	α -глюкозидаза	–	–
9	Глутамилариламидаза pNA	–	–	33	Сукцинатное подщелачивание	–	–
10	D-глюкоза	+	+	34	β -N-ацетилгалактозаминидаза	–	+
11	γ -глутамилтрансфераза	–	–	35	α -галактозидаза	–	–
12	Сбраживание глюкозы	+	+	36	Фосфатаза	+	+
13	β -глюкозидаза	–	–	37	Глицинарилиамидаза	–	–
14	D-мальтоза	–	–	38	Орнитиндекарбоксилаза	–	–
15	D-маннитол	+	+	39	Лизиндекарбоксилаза	–	–
16	D-манноза	+	–	40	Продуцирование L-гистидина	–	–
17	β -ксилозидаза	–	–	41	Кумарат	+	+
18	β -аланинарилиамидаза pNA	–	–	42	β -глюкоронидаза	–	–
19	L-пролин-ариламидаза	–	–	43	Чувствительность к вибриостатику O/129	–	–
20	Липаза	–	–	44	Glu-Gly-Arg-ариламидаза	–	–
21	Палатиноза	–	–	45	Продуцирование L-малата	–	–
22	Тирозин-ариламидаза	–	–	46	Реактив Элмана	–	–
23	Уреаза	–	–	47	Продуцирование L-лактата	–	–
24	D-сорбит	+	+				

Таблица 7. Активность выделенных микроорганизмов

Table 7. Activity of isolates

Номер микроорганизма	Количество синтезируемой ИУК, мкг/мл	Количество синтезируемой ГК, мкг/мл	Содержание азота, мкг/мл	Индекс соллюбилизации фосфатов
<i>Pantoea allii</i> Tri 1	8441 $\pm$ 251 ^a	234 $\pm$ 6 ^a	120 $\pm$ 3 ^a	1,36 $\pm$ 0,03 ^a
<i>Bacillus subtilis</i> Tri 2	2030 $\pm$ 59 ^b	213 $\pm$ 5 ^a	160 $\pm$ 4 ^a	–
<i>Bacillus subtilis</i> Ave 1	7100 $\pm$ 210 ^b	343 $\pm$ 8 ^b	790 $\pm$ 22 ^b	1,60 $\pm$ 0,03 ^b
<i>Pantoea allii</i> Ave 2	4840 $\pm$ 143 ^r	276 $\pm$ 7 ^a	670 $\pm$ 19 ^b	1,00 $\pm$ 0,02 ^b
<i>Bacillus subtilis</i> Hor 1	4490 $\pm$ 131 ^л	409 $\pm$ 11 ^r	760 $\pm$ 22 ^r	1,44 $\pm$ 0,03 ^r
<i>Bacillus subtilis</i> Hor 2	8344 $\pm$ 250 ^a	405 $\pm$ 10 ^r	30,2 $\pm$ 0,8 ^л	1,00 $\pm$ 0,02 ^л
<i>Bacillus subtilis</i> Hor 3	4650 $\pm$ 138 ^л	342 $\pm$ 9 ^b	750 $\pm$ 22 ^r	1,44 $\pm$ 0,04 ^c
<i>Azospirillum brasilense</i> B-11094	0,7 $\pm$ 0,1 ^c	1060 $\pm$ 30 ^л	118 $\pm$ 3 ^a	0,92 $\pm$ 0,01 ^{ал}
<i>Azotobacter chroococcum</i> B-8739	0,5 $\pm$ 0,1 ^c	1100 $\pm$ 32 ^c	151 $\pm$ 3 ^a	0,98 $\pm$ 0,01 ^b

Примечание: ^{a-c} – достоверность различий между микроорганизмами (в пределах одного исследуемого параметра), рассчитанная методом ANOVA с апостериорным критерием Шеффе. При отсутствии достоверных различий буквенный индекс одинаков.

Note: ^{a-c} – the values indicate reliable differences between microorganisms within one parameter as calculated by the ANOVA method with the Scheffe post hoc test. The letter indices are the same if no reliable differences were detected.

Для выявления наиболее перспективных штаммов оценивали способность изолятов к синтезу индолил-3-уксусной и гиббереллиновой кислот, фиксации азота и соллюбилизации фосфатов. Результаты анализов представлены в таблице 7:

1. В результате исследования выявлено, что количество синтезируемой индолил-3-уксусной кислоты варьировалось от 0,5 до 8441 мкг/мл. Наибольшую активность (более 7000 мкг/мл) проявили 3 штамма: *Pantoea allii* Tri 1 (8441 $\pm$ 251 мкг/мл),

B. subtilis Hor 2 (8344 ± 250 мкг/мл) и *B. subtilis* Ave 1 (7100 ± 210 мкг/мл).

2. Количество синтезируемой гиббереллиновой кислоты варьировалось от 213 до 1100 мкг/мл. Наибольшей активностью (более 900 мкг/мл) обладали 2 микроорганизма: *A. chroococcum* B-8739 (1100 ± 32 мкг/мл) и *A. brasilense* B-11094 (1060 ± 30 мкг/мл).

3. Содержание азота варьировалось в пределах от 30 до 790 мкг/мл. Наибольшую активность (более 650 мкг/мл) проявили 4 штамма: *B. subtilis* Ave 1 (790 ± 22 мкг/мл), *B. subtilis* Hor 1 (760 ± 22 мкг/мл), *B. subtilis* Hor 3 (750 ± 22 мкг/мл) и *P. allii* Ave 2 (670 ± 19 мкг/мл).

4. Индекс солюбилизации фосфатов находился в диапазоне от 0,92 до 1,60. Наибольшей активностью (более 1,50) обладал штамм *B. subtilis* Ave 1 (1,60).

В современной научной литературе освещается способность некоторых представителей рода *Pantoea* к продуцированию ИУК. R. K. Singh и соавторы выявили, что эндофитный штамм *P. cypripedii* AF1 продуцировал ИУК в количестве от 100 до 250 мкг/мл и проявлял способность к фиксации атмосферного азота [61]. Фосфатсолюбилизирующий штамм *P. rhizosphaerae* sp. демонстрировал способность к синтезу ИУК, а также сидерофоров [62]. *P. agglomerans* NCTC9381, выделенная в исследовании A. Rfaki и др., обладала способностью продуцировать индоллил-3-уксусную кислоту и сидерофоры.

Тем не менее результаты, полученные авторами, указывают на то, что метаболические пути представителей рода *Pantoea* значительно разнятся. Например, *P. vagans* LMG 24199 не обладала способностью к синтезу ростостимулирующих веществ [63]. У представителей рода *Bacillus* обнаружена способность к синтезу фитогормонов, в частности ИУК. J. Shao и др. утверждали, что ростостимулирующая способность штамма *B. amyloliquefaciens* SQR9, выделенного из ризосферы огурца, во многом обусловлена способностью к продуцированию ИУК. Кроме того, штамм продуцировал внеклеточную фитазу и летучие компоненты, включая ацетонин, 2,3-бутандиол [64]. Отмечена способность к синтезу данного фитогормона и у *B. cereus*. В исследовании M. Özdal и др. изоляты этого вида, выделенные из ризосферной почвы, продуцировали ИУК в стационарной фазе роста [65]. Синтезировал ИУК и *B. megaterium* BM5, выращиваемый на среде, содержащей L-триптофан [66]. Способность *Azospirillum* продуцировать фитогормоны хорошо описана в современной научной литературе. D. Rivera и соавторы указали на способность штаммов *A. brasilense* Sp245 и Az39 продуцировать ИУК при наличии в среде L-триптофана. Авторы отметили, что биосинтез ИУК ингибируется присутствием нескольких L-аминокислот (метианин, валин, цистеин, серин), вероятно, из-за нарушений в клеточном метаболизме [67]. Доказательства способности *Azotobacter* продуцировать ИУК представлены в современной научной литературе в меньшей степени [68].

Синтез микроорганизмами другого важного фитогормона – гиббереллиновой кислоты – гораздо менее изучен. L. Lv и соавторы предположили, что в основе стимулирования роста растений представителями *Pantoea* лежит производство этого фитогормона и ряд других перспективных для сельского хозяйства свойств, в частности фиксация атмосферного азота, солюбилизация фосфатов, биосинтез сидерофоров, экзополисахаридов, дезаминазы 1-аминоциклопропан-1-карбоновой кислоты [69]. Исследования G. Lenin и M. Jayanthi показали, что потенциал к синтезу ГК у представителей рода *Azotobacter* намного выше, чем у родов *Pseudomonas* и *Bacillus* [70]. Наше исследование показало аналогичные результаты, *A. chroococcum* B-8739 занял лидирующие позиции по продуцированию гиббереллиновой кислоты в сравнении с представителями родов *Pantoea* и *Bacillus*. В то же время значительной разницы в продуцировании гиббереллиновой кислоты с представителем рода *Azospirillum* отмечено не было.

Ранжирование полученных данных представлено в таблице 8 и на рисунке 4.

Таким образом, по результатам ранжирования PGP-свойств для дальнейшего анализа выбрано 2 штамма (ранг 4,2 и более): *B. subtilis* Ave 1 (ранг 4,55) и *B. subtilis* Hor 1 (ранг 4,20).

Лабораторная апробация перспективных штаммов представлена в таблицах 9–11.

Статистически значимыми результатами по отношению к контрольному варианту является длина побега (149 ± 3 мм) и длина корня (89 ± 2 мм) при обработке *B. subtilis* Ave 1.

Статистически значимыми результатами по отношению к контрольному варианту является энергия прорастания (75 ± 2 %), всхожесть (84 %) и длина побега (145 ± 3 мм) при обработке *B. subtilis* Ave 1, длина побега (143 ± 2 мм) при обработке *B. subtilis* Hor 1.

Статистически значимыми результатами по отношению к контрольному варианту является длина побега (148 ± 3 мм) и длина корня (90 ± 3 мм) при обработке *B. subtilis* Ave 1.

Полученные результаты подтверждаются исследованиями других ученых. Ростостимулирующие штаммы *Bacillus* spp. способствовали ускоренному росту другой зерновой культуры – пшеницы [71]. Исследования А. Платонова и соавторов показали, что коммерческие препараты на основе *B. subtilis* и *B. megaterium* оказывают положительное влияние на ростовые процессы, фотосинтетические параметры и зерновую продуктивность овса [72]. Солеустойчивые штаммы *Bacillus*, способные продуцировать индоллил-3-уксусную кислоту, оказывали положительное влияние на рост овса, в частности, в условиях солевого стресса [73]. В исследовании S. Kumari и соавторов показано, что фосфатсолюбилизирующий штамм *B. subtilis* DR2 способствует интенсификации роста ячменя [74].

Таблица 8. Ранжирование свойств бактерий

Table 8. Ranged bacterial properties

Номер микроорганизма	Балл				Ранг			
	ИУК	ГК	Азот	Фосфор	ИУК	ГК	Азот	Фосфор
<i>Pantoea allii</i> Tri 1	5	2	1	4	0,75	0,30	0,5	0,8
<i>Bacillus subtilis</i> Tri 2	2	2	1	1	0,30	0,30	0,5	0,2
<i>Bacillus subtilis</i> Ave 1	5	2	5	5	0,75	0,30	2,5	1,0
<i>Pantoea allii</i> Ave 2	3	2	5	2	0,45	0,30	2,5	0,8
<i>Bacillus subtilis</i> Hor 1	3	3	5	4	0,45	0,45	2,5	0,8
<i>Bacillus subtilis</i> Hor 2	5	3	1	2	0,75	0,45	0,5	0,4
<i>Bacillus subtilis</i> Hor 3	3	2	5	4	0,45	0,30	2,5	0,8
<i>Azospirillum brasilense</i> B-11094	1	5	1	1	0,15	0,15	0,5	0,2
<i>Azotobacter chroococcum</i> B-8739	1	5	1	1	0,15	0,15	0,5	0,2

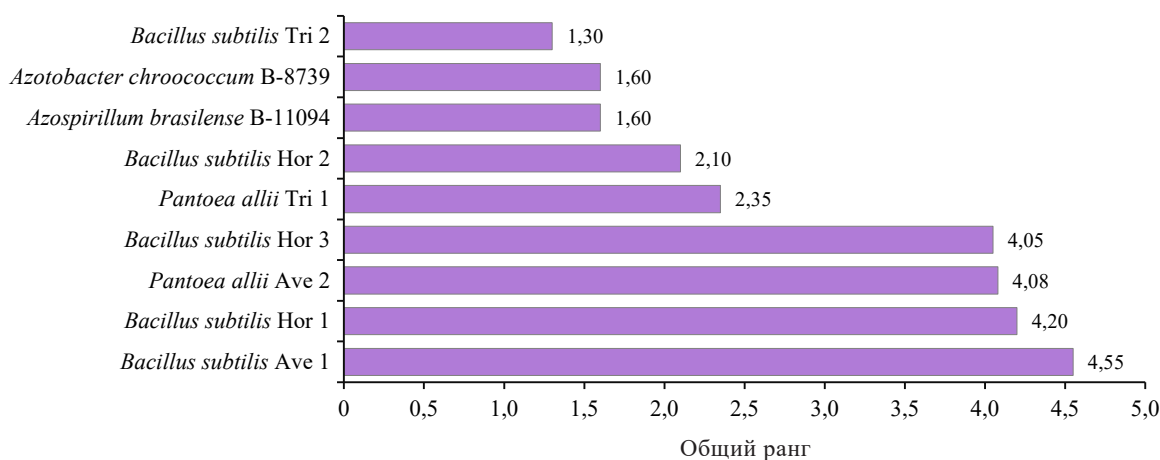


Рисунок 4. Ранжирование исследуемых бактериальных штаммов

Figure 4. Ranged bacterial strains

Таблица 9. Лабораторная апробация перспективных штаммов на яровой мягкой пшенице сорта «Сибирский Альянс»

Table 9. Effect of strains on spring wheat of the Sibirsky Alyans variety

Варианты опыта	Энергия прорастания, %	Всхожесть, %	Длина побега, мм	Длина корня, мм
Контроль	69 ± 2	75 ± 2	132 ± 4	80 ± 2
Обработка <i>Bacillus subtilis</i> Ave 1	71 ± 4 Tst = 0,45; p = 0,68	80 ± 2 Tst = 1,77; p = 0,18	149 ± 3 Tst = 3,40; p = 0,04	89 ± 2 Tst = 3,18; p = 0,05
Обработка <i>Bacillus subtilis</i> Hor 1	73 ± 3 Tst = 1,11; p = 0,35	76 ± 3 Tst = 0,28; p = 0,80	145 ± 3 Tst = 2,60; p = 0,08	84 ± 1 Tst = 1,79; p = 0,17

Таблица 10. Лабораторная апробация перспективных штаммов на яровом овсе сорта «Маручак»

Table 10. Effect of strains on spring oats of the Maruchak variety

Варианты опыта	Энергия прорастания, %	Всхожесть, %	Длина побега, мм	Длина корня, мм
Контроль	65 ± 2	76 ± 2	130 ± 3	84 ± 2
Обработка <i>Bacillus subtilis</i> Ave 1	75 ± 2 Tst = 3,54; p = 0,04	84 ± 1 Tst = 3,58; p = 0,04	145 ± 3 Tst = 3,54; p = 0,04	91 ± 3 Tst = 1,94; p = 0,15
Обработка <i>Bacillus subtilis</i> Hor 1	72 ± 3 Tst = 1,94; p = 0,15	79 ± 2 Tst = 1,06; p = 0,37	143 ± 2 Tst = 3,30; p = 0,04	88 ± 2 Tst = 1,41; p = 0,25

Таблица 11. Лабораторная апробация перспективных штаммов на яровом ячмене сорта «Никита»

Table 11. Effect of strains on spring barley of the Nikita variety

Варианты опыта	Энергия прорастания, %	Всхожесть, %	Длина побега, мм	Длина корня, мм
Контроль	70 ± 2	75 ± 3	135 ± 3	79 ± 2
Обработка <i>Bacillus subtilis</i> Ave 1	75 ± 3 Tst = 1,39; <i>p</i> = 0,26	82 ± 3 Tst = 1,65; <i>p</i> = 0,20	148 ± 3 Tst = 3,06; <i>p</i> = 0,05	90 ± 3 Tst = 3,05; <i>p</i> = 0,05
Обработка <i>Bacillus subtilis</i> Hor 1	72 ± 3 Tst = 0,55; <i>p</i> = 0,62	80 ± 4 Tst = 1,00; <i>p</i> = 0,40	145 ± 3 Tst = 2,36; <i>p</i> = 0,10	83 ± 2 Tst = 1,41; <i>p</i> = 0,25

Выводы

Пшеница, ячмень и овес – ценные сельскохозяйственные культуры, обеспечивающие продовольственную безопасность во многих странах мира. Их продуктивность может значительно снижаться под воздействием различных факторов в особенности из-за недостаточного содержания питательных элементов в почвах. Биологические удобрения на основе эндофитных микроорганизмов могут способствовать повышению урожайности зерновых культур, представляя собой экологичную альтернативу минеральным удобрениям.

В ходе исследования выделено 7 изолятов микроорганизмов, 2 из которых являлись эндофитами пшеницы, два – овса и 3 – ячменя. Были охарактеризованы культурально-морфологические и биохимические свойства с целью идентификации видовой принадлежности. Идентификация показала, что выделенные микроорганизмы относились к штаммам *Pantoea allii* Tri 1, *Bacillus subtilis* Tri 2, *Bacillus subtilis* Ave 1, *Pantoea allii* Ave 2, *Bacillus subtilis* Hor 1, *Bacillus subtilis* Hor 2, *Bacillus subtilis* Hor 3. Для выбора наиболее перспективных штаммов оценили их ростостимулирующую активность, а также провели ранжирование полученных результатов в соответствии с важностью показателей для данной работы. Выбраны штаммы *B. subtilis* Ave 1 (продуцирование индолил-3-уксусной кислоты – 7100 мкг/мл, гиббереллиновой кислоты – 343 мкг/мл, фиксация атмосферного азота – 790 мкг/мл, индекс солюбилизации фосфатов – 1,60) и *B. subtilis* Hor 1 (продуцирование индолил-3-уксусной кислоты – 4490 мкг/мл, гиббереллиновой кислоты – 408,9 мкг/мл, фиксация атмосферного азота – 760 мкг/мл, индекс солюбилизации фосфатов – 1,44).

Дальнейшие исследования показали, что обработка штаммами положительно сказывается на росте зерно-

вых культур. Статистически значимое увеличение длины побега и корня наблюдалось при обработке пшеницы сорта «Сибирский Альянс» штаммом *B. subtilis* Ave 1. Обработка овса сорта «Марушак» данным штаммом привела к достоверному увеличению энергии прорастания, всхожести и длины побега. В то время как обработка штаммом *B. subtilis* Hor 1 оказывала значительное влияние только на длину побега. При обработке ячменя сорта «Никита» лидирующие позиции в стимулировании роста занял штамм *B. subtilis* Ave 1: отмечено статистически значимое увеличение длины побега и корня относительно контрольных вариантов. При обработке ячменя штаммом *B. subtilis* Hor 1 наблюдали увеличение ростовых показателей, но разница не являлась статистически значимой. Таким образом, наибольшими перспективами в интенсификации роста сельскохозяйственных культур обладает штамм *B. subtilis* Ave 1.

Критерии авторства

Авторы в равной степени участвовали в подготовке и написании статьи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

All the authors contributed equally to the study and bear equal responsibility for information published in this article.

Conflict of interest

The authors declared no conflict of interests regarding the publication of this article.

References/Список литературы

1. Kachutova AA. Efficiency of grain production – basis of food safety of the country. Bulletin of NGIEI. 2013;(3):76–88. (In Russ.). [Качутова А. А. Эффективное производство зерна – основа продовольственной безопасности страны // Вестник НГИЭИ. 2013. № 3. С. 76–88.]. <https://elibrary.ru/PZFFSL>
2. Albahri G, Alyamani AA, Badran A, Hijazi A, Nasser M, Maresca M, et al. Enhancing essential grains yield for sustainable food security and bio-safe agriculture through latest innovative approaches. Agronomy. 2023;13(7):1709. <https://doi.org/10.3390/agronomy13071709>

3. Serazetdinova Y, Borodina E, Kolpakova D, Frolova A, Fotina N, Tikhonov S, *et al.* The biopotential of extremophilic microorganisms isolated from Kuzbass for protection and growth stimulation of oat (*Avena sativa* L.). BIO Web of Conferences. 2024;82:03009. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20248203009>
4. Sullivan P, Arendt E, Gallagher E. The increasing use of barley and barley by-products in the production of healthier baked goods. Trends in Food Science and Technology. 2013;29(2):124–134. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2012.10.005>
5. Langridge P. Economic and academic importance of barley. In: Stein N, Muehlbauer GJ, editors. The Barley Genome. Cham: Springer International Publishing; 2018. pp. 1–10. https://doi.org/10.1007/978-3-319-92528-8_1
6. Kolmanič A, Sinkovič L, Nečemer M, Ogrinc N, Meglič V. The effect of cultivation practices on agronomic performance, elemental composition and isotopic signature of spring Oat (*Avena sativa* L.). Plants. 2022;11(2):169. <https://doi.org/10.3390/plants11020169>
7. FAOSTAT [Internet]. [cited 2024 Jun 5]. Available from: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>
8. Daniel AI, Fadaka AO, Gokul A, Bakare OO, Aina O, Fisher S, *et al.* Biofertilizer: The future of food security and food safety. Microorganisms. 2022;10(6):1220. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10061220>
9. Prosekov AYU. Modern aspects of food production. Kemerovo: Kemerovo Technological Institute of Food Industry, 2005. 380 p. (In Russ.). [Просеков А. Ю. Современные аспекты производства продуктов питания. Кемерово: Кемеровский технологический институт пищевой промышленности, 2005. 381 с.]. <https://elibrary.ru/ZRZGCT>
10. Abebe TG, Tamtam MR, Abebe AA, Abtemariam KA, Shigut TG, Dejen YA, *et al.* Growing use and impacts of chemical fertilizers and assessing alternative organic fertilizer sources in Ethiopia. Applied and Environmental Soil Science. 2022;2022(1):1–14. <https://doi.org/10.1155/2022/4738416>
11. Yurina TA, Tkalenko AE. Review of innovative drugs for biologization of agricultural production. AgroForum. 2020;(1):51–53. (In Russ.). [Юрина Т. А., Ткаленко А. Е. Обзор инновационных препаратов для биологизации сельскохозяйственного производства // АгроФорум. 2020. № 1. С. 51–53.]. <https://elibrary.ru/WLIKOC>
12. Kumar R, Kumawat N, Sahu YK. Role of biofertilizers in agriculture. Popular Kheti. 2017;5(4):63–66.
13. Mahmud AA, Upadhyay SK, Srivastava AK, Bhojiya AA. Biofertilizers: A nexus between soil fertility and crop productivity under abiotic stress. Current Research in Environmental Sustainability. 2021;3:100063. <https://doi.org/10.1016/j.crsust.2021.100063>
14. Chaudhary P, Agri U, Chaudhary A, Kumar A, Kumar G. Endophytes and their potential in biotic stress management and crop production. Frontiers in Microbiology. 2022;13:933017. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.933017>
15. Liu H, Carvalhais LC, Crawford M, Singh E, Dennis PG, Pieterse CMJ, *et al.* Inner plant values: diversity, colonization and benefits from endophytic bacteria. Frontiers in Microbiology. 2017;8:2552. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02552>
16. Milentyeva IS, Fotina NV, Zharko MYu, Proskuryakova LA. Microbial treatment and oxidative stress in agricultural plants. Food Processing: Techniques and Technology. 2022;52(4):750–61. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-4-2403>
17. Asyakina LK, Vorob'eva EE, Proskuryakova LA, Zharko MYu. Evaluating extremophilic microorganisms in industrial regions. Foods and Raw Materials. 2023;11(1):162–71. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2023-1-556>
18. Backer R, Rokem JS, Ilangumaran G, Lamont J, Praslickova D, Ricci E, *et al.* Plant growth-promoting rhizobacteria: context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. Frontiers in Plant Science. 2018;9:1473. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01473>
19. Mahanty T, Bhattacharjee S, Goswami M, Bhattacharyya P, Das B, Ghosh A, *et al.* Biofertilizers: a potential approach for sustainable agriculture development. Environmental Science and Pollution Research. 2017;24:3315–3335. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-8104-0>
20. Steenhoudt O, Vanderleyden J. *Azospirillum*, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. FEMS Microbiology Reviews. 2000;24(4):487–506. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2000.tb00552.x>
21. Iqbal R, Valipour M, Ali B, Zulfiqar U, Aziz U, Zaheer MS, *et al.* Maximizing wheat yield through soil quality enhancement: A combined approach with *Azospirillum brasilense* and bentonite. Plant Stress. 2024;11:100321. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2023.100321>
22. Fukami J, Cerezini P, Hungria M. *Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. AMB Express. 2018;8:73. <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0608-1>
23. Turan M, Gulluce M, Von Wirén N, Sahin F. Yield promotion and phosphorus solubilization by plant growth-promoting rhizobacteria in extensive wheat production in Turkey. Journal of Plant Nutrition and Soil Science. 2012;175(6):818–826. <https://doi.org/10.1002/jpln.201200054>
24. Aroca R. Plant responses to drought stress: from morphological to molecular features. Heidelberg: Springer; 2012. p. 466. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-32653-0>
25. Kızılkaya R. Yield response and nitrogen concentrations of spring wheat (*Triticum aestivum*) inoculated with *Azotobacter chroococcum* strains. Ecological Engineering. 2008;33(2):150–156. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2008.02.011>

26. Dal Cortivo C, Ferrari M, Visioli G, Lauro M, Fornasier F, Barion G, et al. Effects of Seed-Applied Biofertilizers on Rhizosphere Biodiversity and Growth of Common Wheat (*Triticum aestivum* L.) in the Field. *Frontiers in Plant Science*. 2020; 11:72. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00072>
27. Mishra P, Dash D. Rejuvenation of biofertilizer for sustainable agriculture and economic development. *Consilience: The Journal of Sustainable Development*. 2014;11(1):41–61.
28. Das HK. *Azotobacters* as biofertilizer. *Advances in Applied Microbiology*. 2019;108:1–43. <https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2019.07.001>
29. Harper SHT, Lynch JM. Effects of *Azotobacter chroococcum* on barley seed germination and seedling development. *Journal of General Microbiology*. 1979;112(1):45–51. <https://doi.org/10.1099/00221287-112-1-45>
30. Bageshwar UK, Srivastava M, Pardha-Saradhi P, Paul S, Gothandapani S, Jaat RS, et al. An environmentally friendly engineered *Azotobacter* Strain that replaces a substantial amount of urea fertilizer while sustaining the same wheat yield. *Applied and Environmental Microbiology*. 2017;83(15):e00590-17. <https://doi.org/10.1128/AEM.00590-17>
31. Kopylov IP, Spyrydonov VH, Patyka VP. Identification of *Azospirillum* genus bacteria isolated from the spring wheat root zone. *Mikrobiologichnyi Zhurnal*. 2009;71:13–19.
32. Ayyaz K, Zaheer A, Rasul G, Mirza MS. Isolation and identification by 16S rRNA sequence analysis of plant growth-promoting azospirilla from the rhizosphere of wheat. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2016;47(3):542–550. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2015.11.035>
33. Camilios-Neto D, Bonato P, Wasseem R, Tadra-Sfeir MZ, Brusamarello-Santos LC, Valdameri G, et al. Dual RNA-seq transcriptional analysis of wheat roots colonized by *Azospirillum brasilense* reveals up-regulation of nutrient acquisition and cell cycle genes. *BMC Genomics*. 2014;15:378. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-378>
34. Kumar V, Narula N. Solubilization of inorganic phosphates and growth emergence of wheat as affected by *Azotobacter chroococcum* mutants. *Biology and Fertility of Soils*. 1999;28:301–305. <https://doi.org/10.1007/s003740050497>
35. Iqbal Z, Ahmad M, Raza MA, Hilger T, Rasche F. Phosphate-Solubilizing *Bacillus* sp. Modulate Soil Exoenzyme Activities and Improve Wheat Growth. *Microbial Ecology*. 2024;87:31. <https://doi.org/10.1007/s00248-023-02340-5>
36. Iqbal Z, Ahmad M, Jamil M, Akhtar MFUZ. Appraising the potential of integrated use of *Bacillus* strains for improving wheat growth. *International Journal of Agriculture and Biology*. 2020;24:1439–1448.
37. Kaur T, Devi R, Kumar S, Sheikh I, Kour D, Yadav AN. Microbial consortium with nitrogen fixing and mineral solubilizing attributes for growth of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Heliyon*. 2022;8(4):e09326. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09326>
38. Pang F, Tao A, Ayra-Pardo C, Wang T, Yu Z, Huang S. Plant organ- and growth stage-diversity of endophytic bacteria with potential as biofertilisers isolated from wheat (*Triticum aestivum* L.). *BMC Plant Biology*. 2022;22:276. <https://doi.org/10.1186/s12870-022-03615-8>
39. Da Silva MF, De Souza Antônio C, De Oliveira PJ, Xavier GR, Rumjanek NG, De Barros Soares LH, et al. Survival of endophytic bacteria in polymer-based inoculants and efficiency of their application to sugarcane. *Plant Soil*. 2012;356:231–243. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1242-3>
40. Cavalcante VA, Dobereiner J. A new acid-tolerant nitrogen-fixing bacterium associated with sugarcane. *Plant Soil*. 1988;108:23–31. <https://doi.org/10.1007/BF02370096>
41. Tarrand JJ, Krieg NR, Döbereiner J. A taxonomic study of the *Spirillum lipoferum* group, with descriptions of a new genus, *Azospirillum* gen. nov. and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. nov. and *Azospirillum brasilense* sp. nov. *Canadian Journal of Microbiology*. 1978;24:967–980. <https://doi.org/10.1139/m78-160>
42. Wisniewski-Dyé F, Borziak K, Khalsa-Moyers G, Alexandre G, Sukharnikov LO, Wuichet K, et al. *Azospirillum* Genomes Reveal Transition of Bacteria from Aquatic to Terrestrial Environments. *PLoS Genetics*. 2011;7(12):e1002430. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002430>
43. Khammas KM, Ageron E, Grimont PAD, Kaiser P. *Azospirillum irakense* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with rice roots and rhizosphere soil. *Research in Microbiology*. 1989;140(9):679–693. [https://doi.org/10.1016/0923-2508\(89\)90199-X](https://doi.org/10.1016/0923-2508(89)90199-X)
44. Baldani VLD, Alvarez MADB, Baldani JJ, Döbereiner J. Establishment of inoculated *Azospirillum* spp. in the rhizosphere and in roots of field grown wheat and sorghum. *Plant and Soil*. 1986;90:35–46. <https://doi.org/10.1007/BF02277385>
45. Bhatia R, Ruppel S, Narula N. Diversity studies of *Azotobacter* spp. from cotton-wheat cropping systems of India. *Journal of Basic Microbiology*. 2008;48(6):455–463. <https://doi.org/10.1002/jobm.200800059>
46. Kumawat KC, Razdan N, Saharan K. Rhizospheric microbiome: Bio-based emerging strategies for sustainable agriculture development and future perspectives. *Microbiological Research*. 2022;254:126901. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126901>
47. Li H, Parmar S, Sharma VK, White JF. Seed endophytes and their potential applications. In: Verma SK, White, Jr JF, editors. *Seed Endophytes*. Cham: Springer International Publishing; 2019. pp. 35–54. https://doi.org/10.1007/978-3-030-10504-4_3

48. Sa R, He S, Han D, Liu M, Yu Y, Shang R, *et al.* Isolation and identification of a new biocontrol bacteria against *Salvia miltiorrhiza* root rot and optimization of culture conditions for antifungal substance production using response surface methodology. BMC Microbiology. 2022;22:231. <https://doi.org/10.1186/s12866-022-02628-5>
49. Amna, Ud Din B, Sarfraz S, Xia Y, Kamran MA, Javed MT, *et al.* Mechanistic elucidation of germination potential and growth of wheat inoculated with exopolysaccharide and ACC- deaminase producing *Bacillus* strains under induced salinity stress. Ecotoxicology and Environmental Safety. 2019;183:109466. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109466>
50. Masi C, Tebiso A, Selva Kumar KV. Isolation and characterization of potential multiple extracellular enzyme-producing bacteria from waste dumping area in Addis Ababa. Heliyon. 2023;9(2):e12645. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e12645>
51. Wu SC, Gao J-K, Chang B-S. Isolation of lindane- and endosulfan-degrading bacteria and dominance analysis in the microbial communities by culture-dependent and independent methods. Microbiological Research. 2021;251:126817. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126817>
52. Borodina E, Asyakina L, Proskuryakova L, Osintseva M, Milentyeva I, Prosekov A. The potential of using plant-growth-stimulating bacteria in phytoremediation of coal dumps. BIO Web of Conferences. 2024;82:06011. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20248206011>
53. Medfu Tarekegn M, Zewdu Salilih F, Ishetu AI. Microbes used as a tool for bioremediation of heavy metal from the environment. Cogent Food and Agriculture. 2020;6(1):1783174. <https://doi.org/10.1080/23311932.2020.1783174>
54. Atuchin VV, Asyakina LK, Serazetdinova YuR, Frolova AS, Velichkovich NS, Prosekov AYU. Microorganisms for bioremediation of soils contaminated with heavy metals. Microorganisms. 2023;11(4):864. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11040864>
55. Asyakina LK, Mudgal G, Tikhonov SL, Larichev TA, Fotina NV, Prosekov AYU. Study of the potential of natural microbiota of spring soft wheat to increase yield. Achievements of Science and Technology in Agro-Industrial Complex. 2023;37(11):12–17. (In Russ.). [Исследование потенциала естественной микробиоты яровой мягкой пшеницы в повышении урожайности / Л. К. Асякина [и др.] // Достижения науки и техники АПК. 2023. Т. 37. № 11. С. 12–17.]. <https://elibrary.ru/HXXGEC>
56. Serazetdinova YuR, Fotina NV, Asyakina LK, Milentyeva IS, Prosekov AYU. Rhizobacteria for Reducing Biotic Stress in Spring Wheat (*Triticum aestivum* L.) Caused by Phytopathogenic Fungi. Storage and Processing of Farm Products. 2023;4(4):98–113. (In Russ.). [Ризобактерии для снижения биотического стресса яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), вызванного фитопатогенными грибами / Ю. Р. Серазетдинова [и др.] // Хранение и переработка сельхозсырья. 2023. № 4. С. 98–113.]. <https://elibrary.ru/JTKRHL>
57. Asyakina LK, Isachkova OA, Kolpakova DE, Borodina EE, Boger VYu, Prosekov AYU. The effect of a microbial consortium on spring barley growth and development in the Kemerovo region, Kuzbass. Grain Economy of Russia. 2024;16(1):104–112. (In Russ.). <https://doi.org/10.31367/2079-8725-2024-90-1-104-112>
58. Fotina NV, Serazetdinova YuR, Kolpakova DE, Asyakina LK, Atuchin VV, Alotaibi KM, *et al.* Enhancement of wheat growth by plant growth-stimulating bacteria during phytopathogenic inhibition. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 2024;60:103294. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2024.103294>
59. Faskhutdinova ER, Fotina NV, Neverova OA, Golubtsova YuV, Mudgal G, Asyakina LK, *et al.* Extremophilic bacteria as biofertilizer for agricultural wheat. Foods and Raw Materials. 2024;12(2):348–360. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2024-2-613>
60. Albassam M, Aslam M. Testing Internal Quality Control of Clinical Laboratory Data Using Paired *t*-Test under Uncertainty. BioMed Research International. 2021;5527845. <https://doi.org/10.1155/2021/2F5527845>
61. Singh RK, Singh P, Guo D-J, Sharma A, Li D-P, Li X, *et al.* Root-Derived Endophytic Diazotrophic Bacteria *Pantoea cypripedii* AF1 and *Kosakonia arachidis* EF1 Promote Nitrogen Assimilation and Growth in Sugarcane. Frontiers in Microbiology. 2021;12:774707. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.774707>
62. Ma Q, He S, Wang X, Rengel Z, Chen L, Wang X, *et al.* Isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacterium *Pantoea rhizosphaerae* sp. nov. from *Acer truncatum* rhizosphere soil and its effect on *Acer truncatum* growth. Frontiers in Plant Science. 2023;14:1218445. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1218445>
63. Rfaki A, Zennouhi O, Aliyat FZ, Nassiri L, Ibjibjen J. Isolation, selection and characterization of root-associated rock phosphate solubilizing bacteria in moroccan wheat (*Triticum aestivum* L.). Geomicrobiology Journal. 2020;37(3):230–241. <https://doi.org/10.1080/01490451.2019.1694106>
64. Shao J, Xu Z, Zhang N, Shen Q, Zhang R. Contribution of indole-3-acetic acid in the plant growth promotion by the rhizospheric strain *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9. Biology and Fertility of Soils. 2015;51:321–330. <https://doi.org/10.1007/s00374-014-0978-8>
65. Özdal M, Gür Özdal Ö, Sezen A, Algur ÖF. Biosynthesis of indole-3-acetic acid by *Bacillus cereus* Immobilized Cells. Cumhuriyet Science Journal. 2016;37(3):212. <https://doi.org/10.17776/csj.34085>
66. Lee J-C, Whang K-S. Optimization of Indole-3-acetic Acid (IAA) Production by *Bacillus megaterium* BM5. Korean Journal of Soil Science and Fertilizer. 2016;49(5):461–468. <https://doi.org/10.7745/KJSSF.2016.49.5.461>

67. Rivera D, Mora V, Lopez G, Rosas S, Spaepen S, Vanderleyden J, et al. New insights into indole-3-acetic acid metabolism in *Azospirillum brasilense*. Journal of Applied Microbiology. 2018;125(6):1774–1785. <https://doi.org/10.1111/jam.14080>
68. Shokri D, Emtiazi G. Indole-3-Acetic acid (IAA) production in symbiotic and non-symbiotic nitrogen-fixing bacteria and its optimization by taguchi design. Current Microbiology. 2010;61:217–25. <https://doi.org/10.1007/s00284-010-9600-y>
69. Lv L, Luo J, Ahmed T, Zaki HEM, Tian Y, Shahid MS, et al. Beneficial effect and *Potential* risk of *Pantoea* on rice production. Plants. 2022;11(19):2608. <https://doi.org/10.3390/plants11192608>
70. Lenin G, Jayanthi M. Indole Acetic Acid, Gibberellic Acid and Siderophore Production by PGPR Isolates from Rhizospheric Soils of *Catharanthus roseus*. International Journal of Pharmaceutical and Biological Archives. 2012;3(4):933–938
71. Dahiya A, Sharma R, Sindhu S, Sindhu SS. Resource partitioning in the rhizosphere by inoculated *Bacillus* spp. towards growth stimulation of wheat and suppression of wild oat (*Avena fatua* L.) weed. Physiology and Molecular Biology of Plants. 2019;25:1483–1495. <https://doi.org/10.1007/s12298-019-00710-3>
72. Platonov AV, Rassokhina II, Laptev GY, Bolshakov VN. Preparations Use Based on Bacteria of the Genus *Bacillus* to Increase the Yield of Oats (*Avena sativa* L.). AGRIVITA Journal of Agricultural Science. 2023;45(1):48–55. <https://doi.org/10.17503/agrivita.v45i1.3757>
73. Mohan V, Devi KS, Anushya A, Revathy G, Viji Kuzhalvaimozhi G, Vijayalakshmi KS. Screening of Salt Tolerant and Growth Promotion Efficacy of Phosphate Solubilizing Bacteria. Journal of Academia and Industrial Research. 2017;5(12):168–172.
74. Kumari S, Kumar P, Kiran S, Kumari S, Singh A. Characterization of culture condition dependent, growth responses of phosphate solubilizing bacteria (*Bacillus subtilis* DR2) on plant growth promotion of *Hordeum vulgare*. Vegetos. 2023;37:266–276. <https://doi.org/10.1007/s42535-023-00589-2>