

МРНТИ 34.27.19

https://doi.org/10.26577/bb106120267

Л.В. Игнатова^{1,2}, Е.В. Бражникова^{1,2}, М.А. Червяков^{1,2*},
Е.В. Москвина^{1,2}, А.П. Черных^{1,2}, С.Р. Мурадова^{1,2},
Р.К. Сыдыкбекова¹

¹Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Алматы, Казахстан

²Казахский научно-исследовательский институт проблем биологии, Алматы, Казахстан

*e-mail: mihach999@gmail.com

ПРИМЕНЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ-АНТАГОНИСТОВ ДЛЯ ЗАЩИТЫ ЯЧМЕНЯ ОТ ФИТОПАТОГЕНОВ

В целях повышения устойчивости растений к биотическим и абиотическим стрессам была создана ассоциация агрономически ценных микроорганизмов на основе ризосферных и эндофитных бактерий. Использование микробных ассоциаций рассматривается как более эффективный подход по сравнению с применением монокультур, поскольку консорциумы микроорганизмов обладают расширенным спектром биологической активности и способны к синергетическому взаимодействию в агроэкосистемах.

Для формирования ассоциации были отобраны штаммы *Pseudomonas flavescens* D5, *Serratia proteamaculans* B5 и *Pseudomonas fluorescens* D7, характеризующиеся ростостимулирующими и биоконтрольными свойствами. Проведена комплексная оценка агрономически ценных свойств ассоциации, включая биосовместимость, галотолерантность, синтез индол-3-уксусной кислоты, фосфат-мобилизующую и антифунгальную активность. Установлено, что ассоциация LYA23 обладает повышенной по сравнению с отдельными штаммами продукцией ИУК, достигающей 63,4 мкг/мл, выраженной фосфат-мобилизующей активностью (293 мкг/мл) и сохраняет рост при концентрации NaCl до 5 %. Ассоциация проявляла высокую антагонистическую активность в отношении *Fusarium graminearum* и *Fusarium oxysporum*, формируя зоны подавления роста до 3,5 ± 0,1 см. Оптимальной для иммобилизации клеток признана полимерная матрица, состоящая из биополимеров пуллулана, пектина и полигидроксиалканата в соотношении 2:1:0,1. Введение гумата калия дополнительно усиливало ростостимулирующий эффект препарата. В вегетационных опытах обработка семян ячменя сорта Арна способствовала увеличению всхожести до 98,6 %, а также достоверному повышению биомассы корней и стеблей по сравнению с контролем.

Ключевые слова: биопрепарат, иммобилизация микроорганизмов, ассоциация бактерий, гумат калия, фитопатогены.

L.V. Ignatova^{1,2}, E.V. Brazhnikova^{1,2}, M.A. Chervyakov^{1,2*}, E.V. Moskvina^{1,2},
A.P. Chernykh^{1,2}, S.R. Muradova^{1,2}, R.K. Sydykbekova¹

¹Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan

²Kazakh Scientific Research Institute of Biology Problems, Almaty, Kazakhstan

*e-mail: mihach999@gmail.com

Application of Antagonistic Microorganisms for the Protection of Barley Against Phytopathogens

In order to enhance plant resistance to biotic and abiotic stresses, an association of agronomically valuable microorganisms based on rhizospheric and endophytic bacteria was developed. The use of microbial associations is considered a more effective approach compared with monocultures, since microbial consortia possess a broader spectrum of biological activity and are capable of synergistic interactions within agroecosystems.

For the formation of the association, the strains *Pseudomonas flavescens* D5, *Serratia proteamaculans* B5, and *Pseudomonas fluorescens* D7 were selected, characterized by plant growth-promoting and biocontrol properties. A comprehensive evaluation of the agronomically valuable properties of the association was carried out, including biosafety/biocompatibility, halotolerance, synthesis of indole-3-acetic acid, phosphate-mobilizing activity, and antifungal activity. It was found that the LYA23 association demonstrated increased IAA production compared with individual strains, reaching 63.4 µg/mL, pronounced phosphate-mobilizing activity (293 µg/mL), and maintained growth at NaCl concentrations up to 5%. The association exhibited high antagonistic activity against *Fusarium graminearum* and *Fusarium oxysporum*, forming growth inhibition zones up to 3.5 ± 0.1 cm. The polymer matrix composed of the

biopolymers pullulan, pectin, and polyhydroxyalkanoate in a ratio of 2:1:0.1 was recognized as optimal for cell immobilization. The addition of potassium humate further enhanced the plant growth-promoting effect of the preparation. In vegetation experiments, treatment of barley seeds of the **Arna** cultivar increased germination up to 98.6% and significantly increased root and shoot biomass compared with the control.

Keywords: biopreparation, immobilization of microorganisms, bacterial association, potassium humate, phytopathogens.

Л.В. Игнатова^{1,2}, Е.В. Бражникова^{1,2}, М.А. Червяков^{1,2*}, Е.В. Москвина^{1,2},
А.П. Черных^{1,2}, С.Р. Мурадова^{1,2}, Р.К. Сыдыкбекова¹

¹Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Алматы, Қазақстан

²Биология мәселелері жөніндегі Қазақ ғылыми-зерттеу институты, Алматы, Қазақстан

*e-mail: mihach999@gmail.com

Арпаны фитопатогендерден қорғау үшін антагонист микроорганизмдерді қолдану

Өсімдіктердің биотикалық және абиотикалық стресстерге төзімділігін арттыру мақсатында ризосфера мен эндофиттік бактериялардың негізінде агрономиялық құнды микроорганизмдердің бірлестіктері құрылды. Микробтық бірлестіктерді қолдану монокультураармен салыстырғанда тиімдірек тәсіл болып саналады, себебі микроорганизмдер консорциумдары кең ауқымдағы биологиялық белсенділіктері және агроэкожүйелерде өзара синергетикалық қарым-қатынас жасау қабілеттіліктері бар.

Бірлестіктер құру үшін өсуді ынталандыру және биобақылау қасиеттерімен ерекшеленген *Pseudomonas flavescens D5*, *Serratia proteamaculans B5* және *Pseudomonas fluorescens D7* штаммдары таңдап алынды. Бірлестіктердің агрономиялық құнды қасиеттеріне, соның ішінде биоүйлесімділік, тұзға төзімділік, индол-3-сірке қышқылының синтезі, фосфатты мобилизациялау және саңырауқұлақтарға қарсы белсенділіктері бойынша кешенді бағалау жүргізілді. LYA23 бірлестігі жеке штаммдармен салыстырғанда, 63,4 мкг/мл-ге дейін жететін жоғары мөлшерде ИСК өндіріп, сонымен қоса айқын фосфатты мобилизациялау белсенділігі (293 мкг/мл) және 5 %-ға дейін NaCl концентрациясында өсуді сақтап қалатындығы анықталды. Бұл бірлестік *Fusarium graminearum* және *Fusarium oxysporum*-ға қарсы жоғары антагонистік белсенділік көрсетіп, көлемі $3,5 \pm 0,1$ см-ге дейін өсуді тежейтін аймақ түзді. Пуллулан, пектин және полигидроксиалканоат биополимерлерінен тұратын полимерлік матрица 2:1:0.1 қатынасында жасушаны иммобилизациялау үшін оңтайлы деп танылды. Калий гуматының енгізілуі препараттың өсуді ынталандыру әсерін күшейтті. Арпаның Арпа сортының тұқымдарын өңдегендегі вегетациялық тәжірибелерде тұқымның өну деңгейін 98,6%-ға дейін арттыруға, сондай-ақ тамырлар мен сабақтардың биомассасының бақылауға қарағанда айтарлықтай өсуіне ықпал етті.

Түйін сөздер: биопрепарат, микроорганизмдерді иммобилизациялау, бактериялар бірлестігі, калий гуматы, фитопатогендер.

Сокращения и обозначения

ИУК – индолилуксусная кислота; КОЕ – колониеобразующие единицы; ПГА – полигидроксиалканоат; PGP – plant growth-promoting (простимулирующие микроорганизмы)

Введение

Современное сельское хозяйство сталкивается с рядом проблем, включающих деградацию почв, снижение их биологической активности, рост распространенности фитопатогенов и усиление химической нагрузки вследствие широкого применения минеральных удобрений и пестицидов. Использование традиционных средств защиты растений, в частности синтетических

фунгицидов, хотя и обеспечивает высокую эффективность подавления патогенной микрофлоры, сопровождается накоплением токсичных соединений в почве, формированием устойчивых популяций патогенов и негативным воздействием на полезные почвенные микроорганизмы.

В связи с этим особую актуальность приобретает разработка биологических препаратов на основе микроорганизмов – антагонистов фитопатогенов и стимуляторов роста растений. Ризосферные бактерии родов *Pseudomonas* и *Serratia* широко изучаются благодаря их способности продуцировать фитогормоны, антибиотические вещества и ферменты, а также индуцировать системную устойчивость растений. Однако практическое применение микробных инокулянтов ограничено низкой стабильностью

клеток при хранении, чувствительностью к абиотическим факторам и недостаточной выживаемостью после внесения в почву.

Одним из эффективных способов повышения жизнеспособности и эффективности действия микробных препаратов является создание полимерной матрицы с включением ассоциации эффективных микроорганизмов и защитно-питательных добавок для стимулирования роста и защиты сельскохозяйственных растений от фитопатогенов. Использование природных биополимеров, таких как пектин, пуллулан и полигидроксиалканоаты, позволяет создать биоразлагаемые носители, обеспечивающие защиту клеток от стрессовых факторов, постепенное высвобождение микроорганизмов в ризосферу и поддержание их метаболической активности. Дополнительное включение гуминовых соединений открывает возможности для создания комплексных препаратов, сочетающих преимущества биологической и химической защиты растений при снижении экологических рисков.

Научная новизна работы заключается в создании нового комплексного биопрепарата, сочетающего свойства микробного инокулянта, биоудобрения и биофунгицида, за счёт объединения синергически действующей бактериальной ассоциации с биоразлагаемой матрицей из микробных полимеров. Впервые для данной комбинации штаммов показана возможность их эффективной иммобилизации в матрице на основе пуллулана, пектина и полигидроксиалканоата (ПГА) с сохранением жизнеспособности клеток и стимулирующего влияния на рост ячменя в условиях фитопатогенной нагрузки.

Целью настоящей работы являлась разработка и экспериментальная оценка эффективности многофункционального биопрепарата на основе ассоциации микроорганизмов, направленного на стимулирование роста растений и подавление фитопатогенной микрофлоры. Создание биопрепаратов, одновременно включающих свойства биоудобрений и фунгицидов даёт возможность решать многие проблемы биологической защиты растений и повышать качество конечной продукции, а также улучшать состояние почв.

Материалы и методы исследования

1 Объект исследования

Объектом исследования служили штаммы бактерий: *Pseudomonas flavescens* D5 – продуцент ПГА, *Serratia proteamaculans*

B5, *Pseudomonas fluorescens* D7 и созданная на их основе ассоциация LYA23, а также штамм дрожжеподобного гриба *Aureobasidium pullulans* C7 – продуцент пуллулана из коллекции кафедры биотехнологии.

В качестве модельного объекта использовали сорт ячменя (*Hordeum vulgare* L.) «Арна» – среднеспелый, урожайный сорт казахстанской селекции, который характеризуется высокой адаптивностью к почвенно-климатическим условиям засушливых регионов, устойчивостью к полеганию и умеренной толерантностью к засолению (*State Commission for Variety Testing of Agricultural Crops of the Republic of Kazakhstan, 2025*). Сорт отличается хорошей всхожестью семян, выравненными колосьями и стабильной продуктивностью в условиях биотических и абиотических стрессов, что делает его перспективным для экспериментальных исследований по оценке действия PGP микроорганизмов и биопрепаратов.

2 Питательные среды

Для измерения ИУК микроорганизмы культивировали в питательном бульоне с добавлением триптофана (1 г/л)

Определение фосфатазной мобилизации путём культивирования штаммов на среде Пиковской (г/л): глюкоза – 10,0; дрожжевой экстракт – 0,5; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 0,5; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,1; NaCl – 0,2; KCl – 0,2; $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,002; $\text{MnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,002; $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ – 5,0.

Проверку галотолерантности проводили путём культивирования бактерий на питательном агаре с концентрацией NaCl 2,5%, 5%, 7,5%, 10%, 12,5% и 15%.

3 Методы исследований

Культивирование микроорганизмов

Бактериальные штаммы культивировали при температуре 30-35 °С в течение 6, 12, 18, 24 часов. Грибную культуру культивировали при 26-28 °С в течение 24, 48, 72, 96, 120 и 144 часов. Культивирование проводили на шейкере ИКАКС 260 basic со скоростью 150 об/мин.

Изучение биосовместимости культур микроорганизмов

Биосовместимость исследуемых микроорганизмов оценивали методом совместного культивирования. Исходные культуры предварительно выращивали отдельно на питательном агаре при температуре 22 °С в течение 24 ч. Получен-

ные колонии переносили в питательный бульон и инкубировали в течение ночи при 28 °С при постоянном перемешивании (160 об/мин).

На поверхность питательного агара вносили по 100 мкл суспензии тестируемого микроорганизма с оптической плотностью, соответствующей 0,5 единицы по шкале МакФарланда. Стерильные диски из фильтровальной бумаги диаметром 5 мм инокулировали бактериальной культурой, доведённой до концентрации 0,5 McF, после чего размещали на поверхности агара (по 4 диска на чашку Петри) с тестируемым микроорганизмом. Инкубацию проводили в темноте при 28 °С в течение 4 суток (*Usmanova et al., 2024*). Оценку биосовместимости осуществляли по характеру роста культур, числу сформировавшихся колоний, их морфологическим особенностям, а также по наличию или отсутствию зон ингибирования роста.

Синтез фитогормонов

Для количественного определения индол-3-уксусной кислоты (ИУК) микроорганизмы культивировали в питательном бульоне с добавлением L-триптофана в концентрации 1 г/л в течение 48 ч при температуре 32 °С. По завершении инкубации культуральную жидкость центрифугировали при 6000 об/мин в течение 15 мин. Полученный супернатант смешивали с реактивом Сальковского в объёмном соотношении 1:2 и инкубировали в течение 20-30 мин при 32 °С.

Оптическую плотность образцов измеряли на спектрофотометре при длине волны 530 нм. Концентрацию индол-3-уксусной кислоты определяли по калибровочной кривой и выражали в мкг/мл. Реактив Сальковского готовили на основе 0,5 М раствора FeCl₃ и 35%-ной хлорной кислоты (HClO₄) в соотношении 1:50. Оценку уровня продукции фитогормона осуществляли по количеству синтезированной ИУК.

Оценка эффективности фосфат-мобилизующей активности

Фосфат-мобилизующую активность штаммов определяли после культивирования на среде Пиковской в течение 48 ч при 32 °С. Среда содержала (г/л): глюкозу – 10,0; дрожжевой экстракт – 0,5; (NH₄)₂SO₄ – 0,5; MgSO₄·7H₂O – 0,1; NaCl – 0,2; KCl – 0,2; FeSO₄·7H₂O и MnSO₄·7H₂O – по 0,002; Ca₃(PO₄)₂ – 5,0.

Способность микроорганизмов к мобилизации неорганических фосфатов определяли по формированию отчетливых зон просветления

(гало) вокруг колоний на плотной селективной среде. Количество мобилизованного фосфора определяли с использованием реагента С (вода, 6N H₂SO₄, 2,5% молибдат аммония, 10% аскорбиновая кислота в соотношении 2:1:1:1), смешивая 4 мл реагента и 0,05 мл образца.

Исследования проводили для штаммов B5, D5, D7 и их ассоциации; контроль – стерильная среда. После инкубации 1,5 ч при 25 °С оптическую плотность измеряли при 820 нм. Концентрацию мобилизованного фосфора рассчитывали по калибровочной кривой (мкг/мл).

Эффективность оценивали по показателю эффективности мобилизации фосфора (1).

Формула эффективности мобилизации фосфора (1):

$$\text{Эф моб} = \frac{P}{997} \times 100\% \quad (1)$$

где Эф моб – эффективность мобилизации фосфора, %;

P – количество мобилизованного фосфора, мкг/мл,

997 – количество внесенного фосфора, 997 мкг/мл.

Проверка галотолерантности культур и их ассоциации

Галотолерантность исследуемых штаммов и их ассоциаций оценивали в соответствии с методикой (*Maldonado Desena et al., 2022*). Культуры выращивали на питательном агаре с различным содержанием NaCl (2,5; 5,0; 7,5; 10,0; 12,5 и 15,0%) в течение 48 ч при температуре 25 °С. Галотолерантность определяли по числу сформировавшихся колоний и их морфологическим характеристикам.

Определение антагонистической активности бактерий

Антагонистическую активность бактериальных штаммов *Ps. flavescens* D5, *S. proteamaculans* B5, *Ps. fluorescens* D7, а также их ассоциации LYA23 по отношению к фитопатогенным грибам *Fusarium graminearum* и *Fusarium oxysporum* определяли методом встречных культур на агаризованной питательной среде. Культуры фитопатогенных грибов предварительно выращивали на картофельно-декстрозном агаре при температуре 26–28 °С в течение 5–7 суток до образования активно растущего мицелия. Бактериальные штаммы предварительно культивировали в жидкой питательной среде при температуре 30–

32 °С в течение 18–24 ч. Полученную бактериальную культуру наносили штриховым методом на противоположную половину чашки Петри, формируя линию посева параллельно предполагаемой границе взаимодействия культур. В варианте с ассоциацией LYA23 использовали смешанную суспензию исследуемых штаммов бактерий. После инокуляции чашки Петри инкубировали при температуре 26–28 °С в течение 5–7 суток. В качестве контроля использовали чашки Петри, на которые высевали только культуру фитопатогенного гриба без внесения бактерий. Антагонистическую активность оценивали по величине зоны отсутствия роста мицелия гриба в направлении бактериальной культуры, которая формировалась на границе взаимодействия микроорганизмов.

Экстракция пуллулана

Для выделения экзополисахарида пуллулана, образуемого штаммом *Aureobasidium pullulans* С7, культуральную жидкость центрифугировали в течение 15 мин при 6000×g (Центрифуга РС-6МЦ с ротором РУ8×90К (500-6000 об./мин) программируемая, напольная). Полисахарид осаждали из супернатанта 96%-м этанолом в соотношении 2:1 к объёму центрифугата. Отделение экзополисахарида проводили путем центрифугирования при 6000 об/мин в течение 10 минут. Затем ЭПС сушили при комнатной температуре на воздухе в течение 2 суток.

Выделение полигидроксиалконоата (ПГА)

Полигидроксиалконоат выделяли из клеток бактерий с использованием различных соединений: Хлороформ (10:1 по отношению к биомассе) → этанол (5:1 по отношению к органической фазе); Гипохлорит натрия NaOCl 16% → хлороформ (10:1 по отношению к биомассе) → смесь этанола и ацетона (10:1 по отношению к органической фазе); Гипохлорит натрия NaOCl 30 % + хлороформ (1:1 по отношению друг к другу) → изопропанол (2:1 по отношению к органической фазе); Гидроксид натрия NaOH 0,2N → этанол → ацетон → хлороформ (20:1 по отношению к биомассе) → вода → этанол (1:1 по отношению к органической фазе).

Клетки микроорганизмов отделяли от культуральной жидкости центрифугированием в течение 15 минут при 6000×g. Экстракцию ПГА из бактериальных клеток проводили путем обработки биомассы детергентом (хлороформ, гипохлорит натрия). Затем биомассу, смешанную с

детергентом, помещали в термостат на 60 минут при 30°С. Полученную смесь снова центрифугировали в течение 10 минут при 6000×g с получением трех фаз. Верхнюю и среднюю фазы аккуратно удаляли. ПГА осаждали смесью ацетона и этанола в соотношении 1:1 при 40°С в течение 24 часов.

Получение полимерной матрицы.

Формирование полимерной матрицы осуществляли в несколько последовательных этапов с использованием микробных полимеров – пуллулана и ПГА, обладающих биосовместимостью и биоразлагаемостью. Все операции проводили при контролируемых температурных и механических условиях на термостатируемой магнитной мешалке IKA RCT basic.

Для создания матрицы использовали пектин высокоэтерифицированный Thermo Scientific Chemicals (США, Массачусетс).

Пуллулан и пектин смешивали в различных массовых соотношениях (1:1, 2:1, 3:1 и 4:1) и растворяли в дистиллированной воде при температуре 60 °С до получения однородного раствора. Нагревание обеспечивало активацию функциональных групп и равномерное распределение компонентов, что способствовало дальнейшей сополимеризации.

К водной фазе добавляли эфир в соотношении 3:1 (эфир:раствор) и доводили смесь до кипения для формирования устойчивой эмульсионной системы. После начала полимеризации в систему добавляли ПГА в концентрации 0,1 %, продолжая перемешивание в течение 20 минут при постоянной скорости вращения мешалки.

Получение опытных вариантов биопрепарата путем иммобилизации ассоциации микроорганизмов и питательных компонентов в полимерную матрицу

На первом этапе была проведена иммобилизация ассоциации LYA23 на полимерной матрице согласно следующей схеме:

1) чистые монокультуры отобранных ранее штаммов *Ps. flavescens* D5, *S. proteamaculans* B5, *Ps. fluorescens* D7, инокулировали в оптимизированную питательную среду, содержащую 5% мелассы и 5% пептона, и выращивали в течение 12 час при температуре (37±1)°С на орбитальном шейкере IKA KS 260 basic;

2) со-культивирование монокультур проводили на среде с мелассой в течение 3 сут при температуре (37±1) °С; 3) одновременно под-

готовавливали матрицу, состоящую из биополимеров (пуллулана, пектина и ПГА в соотношении 2:1:0,1 и стерилизовали автоклавированием (105°C, 15 мин);

4) ассоциацию бактериальных культур (LYA23) в концентрации 10^6 клеток/мл соединяли с полимерной матрицей (1 мас.ч.) и выдерживали при температуре 18-22°C на орбитальном шейкере IKA KS 260 basic (130 об/мин) в течение 20 мин.

Процесс адсорбции микробных клеток на носителе контролировали нефелометрически (при 600 нм) (Двухлучевой спектрофотометр UV-1900i Plus). Количество иммобилизованных клеток рассчитывали по разности концентрации клеточной суспензии до и после иммобилизации.

Иммобилизацию ассоциации бактерий LYA23 (*Ps. flavescens* D5, *S. proteamaculans* B5, *Ps. fluorescens* D7) в полимерную матрицу проводили методом «адсорбции-инкубации». На стадии «адсорбции» ассоциацию бактериальных культур (LYA23) суспендировали в фосфатно-буферном растворе (титр клеток – 10^{10} КОЕ/мл). Предварительно полученную матрицу вносили в суспензию клеток и инкубировали в течение 24 часов при непрерывном перемешивании (120 об/мин). Полимерную матрицу отмывали от слабо прикрепившихся клеток стерильным физиологическим раствором.

Определение влияния применения микробного препарата на ростовые параметры растений ячменя

В исследовании использовали семена ячменя, которые стерилизовали в 5% растворе гипохлорита натрия. Затем семена тщательно промывали стерильной водой и высевали на питательную агаризованную среду, чтобы предотвратить бактериальное заражение их поверхности.

Эксперимент включал две группы проверки:

1 – семена без обработки;

2 – семена, обработанные одновременно бактериальной суспензией и полимерной смесью.

После стерилизации семян в 5% растворе гипохлорита натрия в течении 30 секунд их переносили в 0,1 М раствор CaCl_2 на 30 секунд, затем промывали стерильной водой. После обработки семена сушили в течение 20 минут перед посадкой. Каждый горшок заполняли 300 г стерильной почвы и высаживали по 10 семян ячменя. Эксперимент проводился в стерильных условиях с тремя повторностями, растения выращивали в течение 21 суток.

Статистический анализ

Анализ данных проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA). Статистическая обработка данных была выполнена с использованием лицензированного пакета программы Statistica версия 10.0 (TIBCO Software Inc., США). Все данные представлены как среднее значение \pm стандартное отклонение.

Результаты исследования и их обсуждение

Оценка агрономических свойств бактериальной ассоциации

В целях повышения устойчивости растений к воздействию биотических и абиотических стрессовых факторов была сформирована ассоциация агрономически значимых микроорганизмов, включающая ризосферные и эндофитные бактерии. Применение микробных консорциумов в настоящее время рассматривается как более эффективная стратегия по сравнению с использованием отдельных штаммов, поскольку ассоциации микроорганизмов характеризуются расширенным спектром функциональной активности и способны реализовывать синергетические эффекты в условиях агроэкосистем (de Andrade et al., 2023; Olanrewaju & Babalola, 2019; Liu et al., 2024).

Для формирования ассоциации были отобраны штаммы *Ps. flavescens* D5, *S. proteamaculans* B5 и *Ps. fluorescens* D7, обладающие выраженными ростостимулирующими и биоконтрольными свойствами. На этапе селекции была подтверждена их биосовместимость с использованием диско-диффузионного метода, метода «лунок» и прямого совместного культивирования, что позволило исключить антагонистические взаимодействия между компонентами консорциума и определить оптимальные условия их сокультивирования.

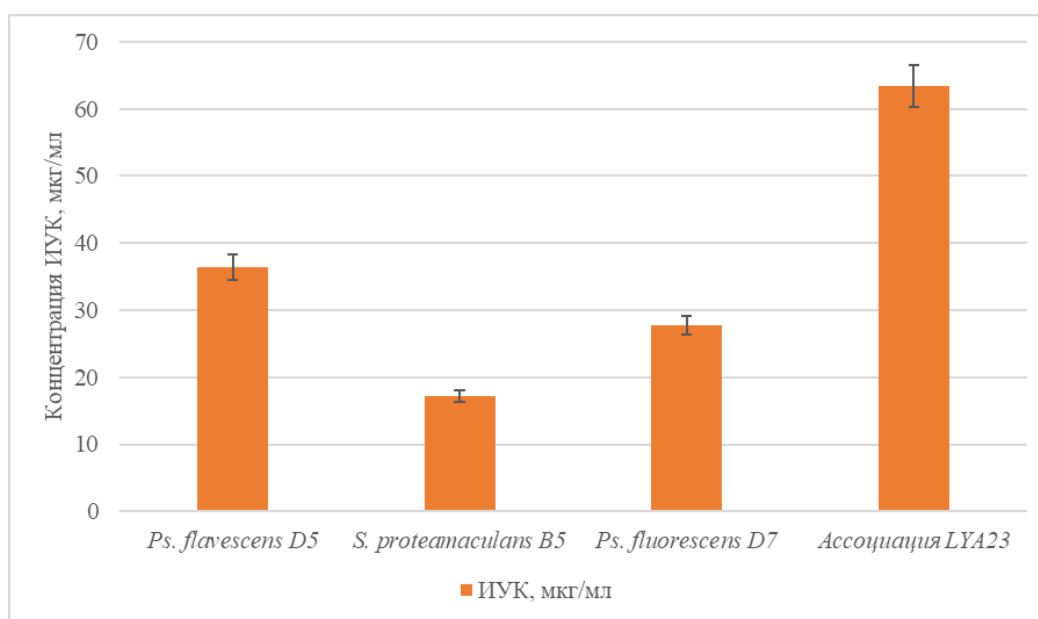
На первом этапе исследований была изучена способность как отдельных штаммов *Pseudomonas flavescens* D5, *Serratia proteamaculans* B5 и *Pseudomonas fluorescens* D7, так и в составе ассоциации (LYA23) к синтезу ИУК. Показано, что отдельные штаммы продуцировали ИУК в количестве от 17,2 до 36,4 мкг/мл. Максимальной продукцией фитогормона характеризовался штамм *Pseudomonas flavescens* D5. Продукция ИУК ассоциацией (LYA23) превзошла отдельные штаммы в 1,7 – 3,6 раза, достигая значения 63,4 мкг/мл (Рисунок 1).

Этот эффект можно объяснить синергетическим взаимодействием отдельных штаммов, особенно относящихся к роду *Pseudomonas*. Известно, что изоляты *Pseudomonas* продуцируют значительное количество индолилуксусной кислоты (ИУК) (Malik & Sindhu, 2011), за счет наличия генов, участвующих в синте-

зе триптофана и кодирующих все ферментативные стадии пути ИУК. Будучи основным предшественником синтеза ИУК, триптофан может превращаться в ИУК через пути индол-3-пировиноградной кислоты (ИПУА), триптамин (ТАМ) и индол-3-ацетамид (ИАМ) (Cheng et al., 2024).

Рисунок 1

Накопление ИУК штаммами микроорганизмов и ассоциацией



На следующем этапе было проведено изучение антагонистической активности штаммов бактерий *Ps. flavescens* D5, *S. proteamaculans* B5 и *Ps. fluorescens* D7 как по отдельности, так и в составе ассоциации (LYA23) по отношению к тест-культурам фитопатогенов *F. graminearum* и *F. oxysporum* методом встречных культур.

Изученные штаммы *Ps. flavescens* D5, *S. proteamaculans* B5, *Ps. fluorescens* D7 обладали выраженными антагонистическими свойствами по отношению к фитопатогенным грибам. Зоны отсутствия роста для исследуемых штаммов и ассоциации варьировали в диапазоне от 2,4 до 3,5 см (Таблица 1).

Ассоциация LYA23 продемонстрировала схожий результат по сравнению с монокультурами, вызывая зоны отсутствия роста фитопатогенов от 2,8 до 3,5 см, что указывает на её значительный потенциал как объекта для разработки

эффективных биофунгицидов против грибов рода *Fusarium*. Максимальные показатели зон отсутствия роста до $3,5 \pm 0,1$ см, свидетельствующие об антифунгальной активности, были отмечены в варианте применения ассоциации LYA23 по отношению к фитопатогену *F. graminearum*.

Следующим этапом было выявление характера взаимодействия исследуемых штаммов *Ps. flavescens* D5, *S. proteamaculans* B5, *Ps. fluorescens* D7 и ассоциации LYA23 с фитопатогенными грибами. Для всех трех исследуемых штаммов был отмечен такой тип проявления антагонистической активности, при котором быстрый рост культуры сопровождается лизисом фитопатогена в местах непосредственного контакта (Рисунок 2). Это может быть связано с продукцией внеклеточных метаболитов, которые, диффундируя в толщу агара, подавляли рост фитопатогенов (Köhl et al., 2019).

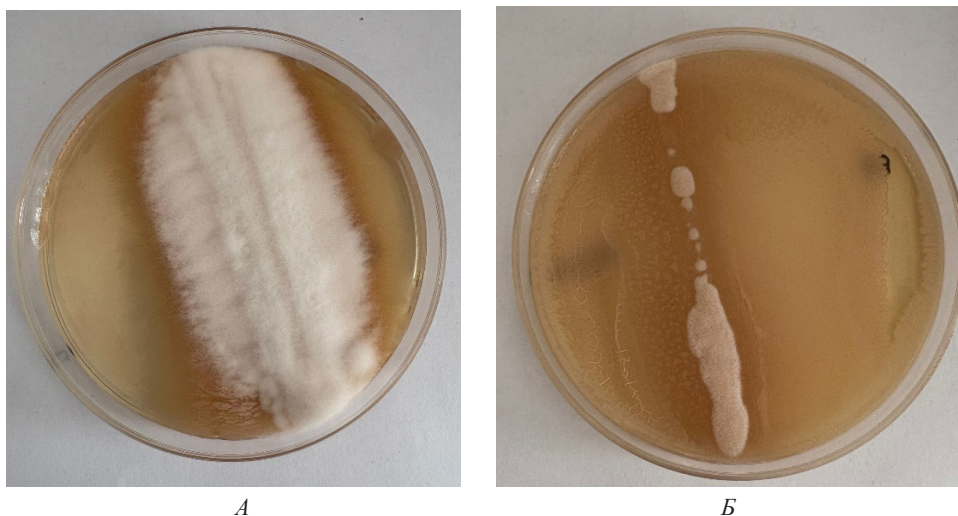
Таблица 1

Антагонистическая активность отдельных штаммов микроорганизмов и ассоциации по отношению к тест-культурам *Fusarium graminearum* и *Fusarium oxysporum*

Штаммы фитопатогена	Размер зоны отсутствия роста, см			
	<i>Ps. flavescens</i> D5	<i>S.proteamaculans</i> B5	<i>Ps.fluorescens</i> D7	Ассоциация LYA23
<i>Fusarium oxysporum</i>	2,8±0.1	2,6±0.1	2,4±0.1	2,8±0.1
<i>Fusarium graminearum</i>	3,0±0.1	2,7±0.1	3,0±0.1	3,5±0.1

Рисунок 2

Антагонистическая активность бактерий. А – контроль *Fusarium graminearum*; Б – лизис тест-культуры *Fusarium graminearum* за счет активного роста штамма *S. proteamaculans*.



Кроме того, такой тип взаимодействия может быть связан с конкуренцией за субстрат, что возможно в связи с быстрым ростом штаммов бактерий, дающим им преимущество в получении питательных веществ. Вероятно, данные штаммы, продуцируют гидролитические ферменты, разрушающие мицелий фитопатогенов, а также соединения с противогрибковой активностью.

В связи с важностью фосфата как носителя энергии в метаболических процессах, способность исследуемых изолятов и ассоциации на их основе растворять фосфат рассматривалась в качестве важного критерия, наряду с другими агрономически ценными показателями (*Olanrewaju & Babalola, 2019*). Поэтому следующим этапом работы была проверка отобранных штаммов по отдельности, так и в составе ассоциации на наличие фосфат-мобилизующей активности.

Для предварительной оценки наличия фосфат-мобилизующей активности у исследуемых микроорганизмов *Ps. flavescens* D5, *S.*

proteamaculans B5 и *Ps. fluorescens* D7 как индивидуально, так и в составе ассоциации LYA23 были выращены на агаровой среде Пиковской. Фосфат-мобилизующую способность оценивали по обнаружению прозрачной зоны «гало» вокруг колонии микроорганизмов.

Исследование показало, что фосфат-мобилизующую активность проявили две культуры, образующие крупные гало зоны – *S. proteamaculans* B5 и *Ps. fluorescens* D7. Данные штаммы также обладали высокой способностью мобилизовать труднорастворимые соединения Р в жидкой среде. Наибольшее количество мобилизованного фосфора показала культура *S. proteamaculans* B5 со значением $89,2 \pm 2,86$ мкг/мл (Таблица 2). К настоящему времени во многих работах описана значительная роль штаммов рода *Serratia*, в мобилизации нерастворимого фосфора. К механизмам, обеспечивающим растворение фосфора, относятся образование органических кислот (например,

яблочной, молочной и уксусной) и образование фосфатаз, включая кислую и щелочную (Barra et al., 2018). Этот механизм также объясняет снижение уровня рН во время культивирования

фосфат-мобилизирующих микроорганизмов. Так рН среды при выращивании *S. proteamaculans* B5 и *Ps. fluorescens* D7 снизилось с 6,92 до $5,91 \pm 0,3 - 5,7 \pm 0,25$.

Таблица 2

Выявление фосфат-мобилизующей активности ассоциации

Штамм	Количество мобилизованного фосфора, мкг/мл	Эффективность Р мобилизации, %	Конечное значение рН среды
<i>Ps. flavescens</i> D5	-	-	-
<i>S. proteamaculans</i> B5	$89,2 \pm 2,86$	$8,94 \pm 0,29$	$5,7 \pm 0,25$
<i>Ps. fluorescens</i> D7	$56,1 \pm 1$	$5,62 \pm 0,1$	$5,91 \pm 0,3$
Ассоциация LYA23	293 ± 1	$29,3 \pm 0,1$	$5,52 \pm 0,3$

При совместном культивировании штаммов *S. proteamaculans* B5 и *Ps. fluorescens* D7 в составе консорциума LYA23 концентрация фосфора достигала 293 мкг/мл. Таким образом, консорциум обеспечивал стабильный уровень мобилизации, что свидетельствует о возможности взаимодополняющего действия микроорганизмов. Подобные результаты согласуются с наблюдениями других авторов, показывающих, что консорциумы бактерий часто обладают более выраженной биологической активностью по сравнению с отдельными штаммами (Vassilev et al., 2020).

Засоление почв является одним из важнейших факторов абиотического стресса, негативно влияющих на жизнестойкость растений. Применение солеустойчивых бактерий, стимулирующих рост растений, может способствовать снижению стресса и повышению устойчивости культур, выращиваемых на засоленных почвах (Behera et al., 2022).

В ходе оценки галотолерантности исследуемых штаммов *Ps. flavescens* D5, *S. proteamaculans* B5 и *Ps. fluorescens* D7 выявлено, что отдельные бактерии, а также их ассоциация (LYA23) способны к росту в среде с концентрацией NaCl от 2,5 до 5 % (Рисунок 3).

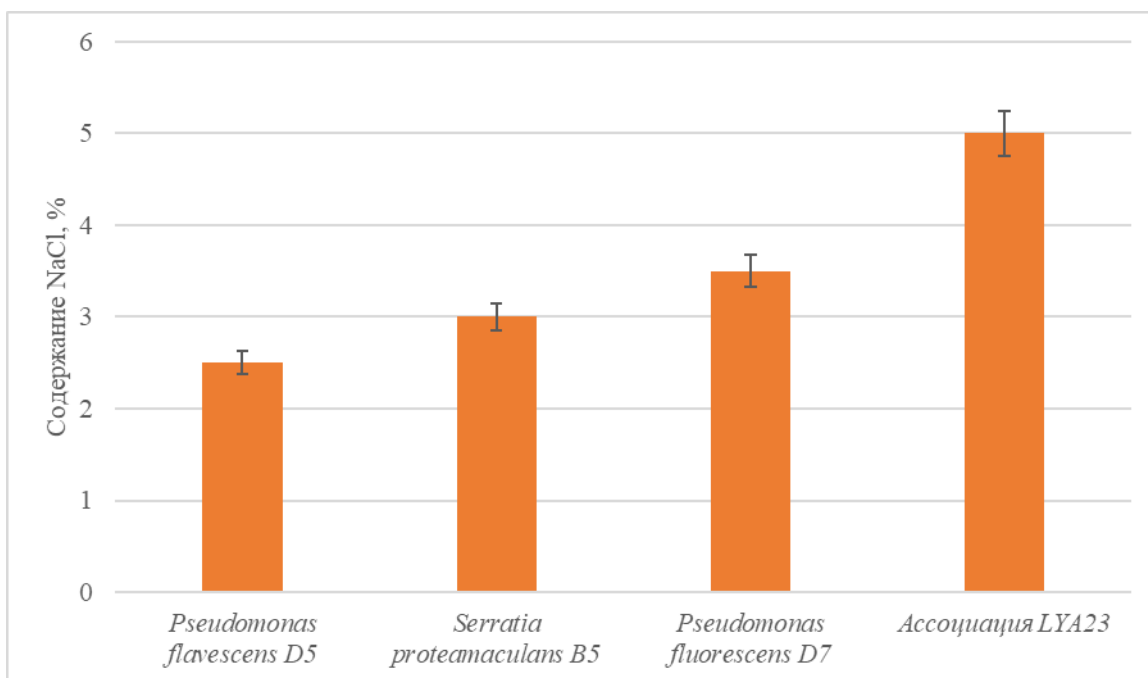
Было показано, что штаммы различались по степени устойчивости к повышенному содержанию поваренной соли в питательной среде. Культура *Ps. flavescens* D5 выдерживала только 2,5% NaCl, тогда как *S. proteamaculans* B5 и *Ps. fluorescens* D7 сохраняли активность при концентрации соли до 3,5% (Рисунок 4)

Тогда как ассоциация бактерий показывала активность при концентрации 5% соли в среде. Ряд авторов подтверждают способность штаммов родов *Serratia* и *Pseudomonas* проявлять устойчивость к солености от 5,8 до 10% NaCl, а также проявлять значительный потенциал в стимулировании роста растений как в нормальных, так и в стрессовых условиях за счет регулирования синтеза и накопления осмопротекторов и сигнальных молекул, усиливая толерантность растений к стрессу, а также повышая доступность питательных веществ и укрепляя антиоксидантную систему (Jagtap et al., 2023).

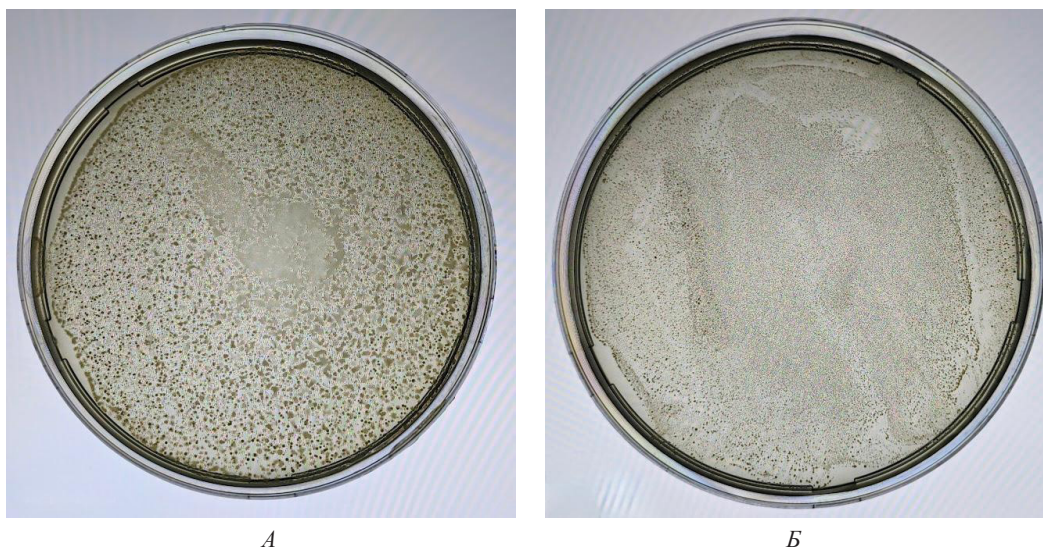
Ассоциация микроорганизмов демонстрировала лучшие показатели по проявлению агрономически ценных признаков, что указывает на наличие синергетического эффекта и возможность взаимной адаптации штаммов. В определенных почвенных условиях инокуляция одним штаммом не дает желаемого результата по той причине, что инокулирующий штамм не может конкурировать с почвенной микрофлорой. Плохая колонизация корней и эффективность выживания, а также почвенные факторы, такие как рН, температура, влажность и т. д., влияют на эффективность инокуляционного штамма (Elkoca et al., 2010). Однако в случае многоштаммового микробного консорциума, благодаря их совместности друг с другом, микробные штаммы взаимодействуют друг с другом синергетически и усиливают рост и развитие растений (Khan et al., 2007), как было отмечено в данном исследовании.

Рисунок 3

Рост бактериальных штаммов и ассоциации при различных концентрациях поваренной соли

**Рисунок 4**

Рост бактерий на питательном агаре, содержащем NaCl: А – 2,5% NaCl, Б – 5%



3.2 Создание полимерной матрицы как основы биопрепарата

Известно, что период выживаемости микроорганизмов в составе биопрепаратов ограничен, а, следовательно, и срок хранения таких препаратов очень краток. Решением этой задачи является включение в состав биопрепарата но-

сителей на основе полимерных материалов, что обеспечивает выживаемость микроорганизмов и сохранение их активности при хранении и использовании препарата (Sekar et al., 2020). Перспективными материалами являются микробные полимеры, которые обладают уникальными свойствами загущения, влагоудержания и стаби-

лизации, а также представляют систему открытых пор с хорошими условиями для газообмена.

Целью данного этапа работы являлось получение экологически чистой, биоразлагаемой композитной полимерной основы, способной обеспечить фиксацию живых бактериальных клеток и поддерживать их физиологическую активность в течение длительного времени.

Создание матрицы осуществлялось путем сополимеризации компонентов с контролем условий реакции и соотношений ингредиентов. Основу разработанной полимерной матрицы составляли микробные полимеры (ПГА, синтезируемый бактериальным штаммом *Ps. flavescens* D5, и пуллулан, продуцируемый дрожжеподобным грибом *A. pullulans* C7) с добавлением пектина, выполняющего функцию структурообразующего и загущающего агента (Таблица 3).

Пуллулан обладает свойствами кислородного барьера и удерживанием влаги. Кроме того, пуллулан является пребиотиком – веществом, стимулирующим рост и развитие микроорганизмов.

Одним из перспективных направлений разработки биополимерных материалов является комбинирование пуллулана с другими природными полисахаридами, в частности пектином. Согласно другим исследованиям (*Sharma et al., 2021*), плёнки, полученные на основе пектина и пуллулана, продемонстрировали улучшенные свойства по сравнению с индивидуальными компонентами.

Таблица 3

Компоненты, используемые для создания полимерной матрицы

Наименование	Назначение
Пуллулан	Структурообразование, влагоудержание
Пектин	Структурообразование и загущение
Полигидроксиалканоат (ПГА)	Антимикробный агент (ссылка на нашу статью про ПГА и яблоки), улучшение механических свойств
Петролейный эфир	Создание органической фазы, обеспечивающая стабильную эмульсионную структуру
Персульфатаммония	Инициатор свободно-радикальной полимеризации

Для выбора оптимальных пропорций компонентов с целью образования стабильной структуры композитного полимерного материала исследовали следующие соотношения пуллулана и пектина: 1:1; 2:1; 3:1 и 4:1.

В качестве органической фазы при создании полимерной матрицы в данной работе был выбран петролейный эфир (Таблица 3). Это обусловлено следующими его свойствами: 1) формирование изолированной от водной среды органической фазы, необходимой для стабилизации эмульсионной структуры; 2) благодаря низкой температуре кипения (42–62 °С) эфир легко удаляется, что минимизирует термическую нагрузку и улучшает биоразлагаемость конечного материала; 3) в промышленной технологии НИРЕ-эмульсий (High Internal Phase Emulsions) эфир используется как внутренняя фаза, обеспечивая пористую структуру после полимеризации. Таким образом, использование петролейного эфира обеспечивает стабильную эмульсионную структуру, упрощает стадию удаления растворителя, формирует контролируемую морфологию полученного полимера, что согласуется с ранее апробированными методиками синтеза функциональных полимерных материалов.

В качестве инициатора свободно-радикальной полимеризации в данной работе использован персульфатаммония (Таблица 3). Персульфатаммония является распространённым, широко используемым инициатором полимеризации в водных системах. При нагревании персульфатаммония диссоциирует с образованием сульфатных радикалов, способных атаковать гидроксил-группы полисахаридов, формируя макрорадикалы, которые затем вступают в сшивку с образованием трёхмерной сетчатой структуры.

Ключевые этапы создания полимерной матрицы на основе микробных полимеров пуллулана и ПГА:

1. Растворение полисахаридов. Пуллулан и пектин смешивали в различных соотношениях (1:1, 2:1, 3:1, 4:1), растворяли в дистиллированной воде при температуре 60 °С на термостатируемой магнитной мешалке до получения однородной массы. Нагревание водного раствора пуллулана и пектина до 60 °С позволяет обеспечить их равномерное растворение и активизацию функциональных групп для последующего взаимодействия.

2. Формирование эмульсионной системы. Водную фазу дополняли эфиром (соотношение

3:1, эфир:раствор), после чего смесь доводили до кипения. Этот этап обеспечивает фазовое разделение и способствует переходу к эмульсионной системе, создающей условия для сополимеризации в двухфазной среде, что улучшает сшивку.

3. Инициация полимеризации. В реакционную смесь вводили персульфат аммония в расчете 3,7 мг/мл. Введение данного инициатора активирует радикальную сополимеризацию между полисахаридами и ПГА, обеспечивая формирование сетчатой структуры.

4. Введение ПГА. После начала полимеризации к системе добавляли ПГА в концентрации 0,1%. Смесь продолжали перемешивать в течение 20 минут при постоянной скорости вращения мешалки. Добавление ПГА (0,1%) обусловлено необходимостью включения термопластичного компонента в минимально достаточной концентрации, чтобы улучшить механические свойства и биостабильность матрицы без нарушения её пластичности.

5. Формирование полимерной матрицы. Смесь охлаждали при 0 °С до этапа разделения на фазы, затем выдерживали полученный композит 24 часа сначала в эфирной среде (для удаления нерастворенных фракций), затем – в воде для удаления остатков несвязанных компонентов и побочных продуктов. На данном этапе происходит формирование гомогенной желеобразной массы - полимерной матрицы.

6. Высушивание. Полученную очищенную массу высушивали при температуре 50 °С, что способствует стабилизации матрицы и завершает процесс ее структурообразования при одновременном сохранении свойств полимеров.

Свойства полученных образцов полимерной матрицы были изучены на основании визуального анализа (Таблица 4). Таким образом, путем оценки внешнего вида выбран оптимальный состав полимерного композитного материала с соотношением пуллулан:пектин = 2:1.

Таблица 4

Визуальный анализ полимерной матрицы

Соотношение пуллулан:пектин	Внешний вид
1 : 1	Мутная, рыхлая масса
2 : 1	Однородная, желеобразная масса
3 : 1	Очень плотная, грубоволокнистая, тягучая
4 : 1	Гиперплотная слоистая масса, с трещинами

Получение опытных вариантов биопрепарата путем иммобилизации ассоциации микроорганизмов и защитно-питательных компонентов в полимерную матрицу

Иммобилизация является одним из наиболее эффективных методов сохранения метаболической активности клеток и обеспечения их долговременного действия в агроэкосистемах. Поэтому, для повышения стабильности бактерий *Ps. flavescens* D5, *S. proteamaculans* B5 и *Ps. fluorescens* D7, входящих в состав ассоциации LYA23, микробные клетки были иммобилизованы в полимерную матрицу с добавлением защитно-питательных компонентов.

На первом этапе была проведена иммобилизация ассоциации LYA23 на полимерной матрице согласно следующей схеме: 1) чистые монокультуры отобранных ранее штаммов *Ps. flavescens* D5, *S. proteamaculans* B5, *Ps. fluorescens* D7, инокулировали в оптимизированную питательную среду, содержащую 5% мелассы и 5% пептона, и выращивали в течение 12 час при температуре (37±1)°С на орбитальном шейкере; 2) со-культивирование монокультур проводили на среде с мелассой в течение 3 сут при температуре (37±1) °С; 3) одновременно подготавливали матрицу, состоящую из биополимеров (пуллулана, пектина и ПГА в соотношении 2:1:0,1 и стерилизовали автоклавированием (105°С, 15 мин); 4) ассоциацию бактериальных культур (LYA23) в концентрации 10¹⁰ клеток/мл соединяли с полимерной матрицей (1 мас.ч.) и выдерживали при температуре 18-22°С на орбитальном шейкере (130 об/мин) в течение 2 час.

Иммобилизация микробных клеток была проведена методом «адсорбции-инкубации» (*Nguyen et al., 2009*). Этот метод иммобилизации клеток обеспечивает высокую концентрацию биомассы на единицу объема носителя. В результате эффективность адсорбции составила 65 %, тогда как эффективность десорбции – 10 %.

На этапе инкубации полимерную матрицу с иммобилизованными клетками помещали в питательный бульон. Благодаря относительно рыхлой структуре матрицы питательные вещества из среды свободно диффундировали во внутреннее пространство, что обеспечивало рост и размножение бактерий не только на поверхности, но и внутри матрицы. В результате после инкубации плотность иммобилизованных клеток увеличилась. Уже через 2 часа инкубации численность бактериальных клеток достигала максимального значения – 6,4 × 10⁸ КОЕ/г.

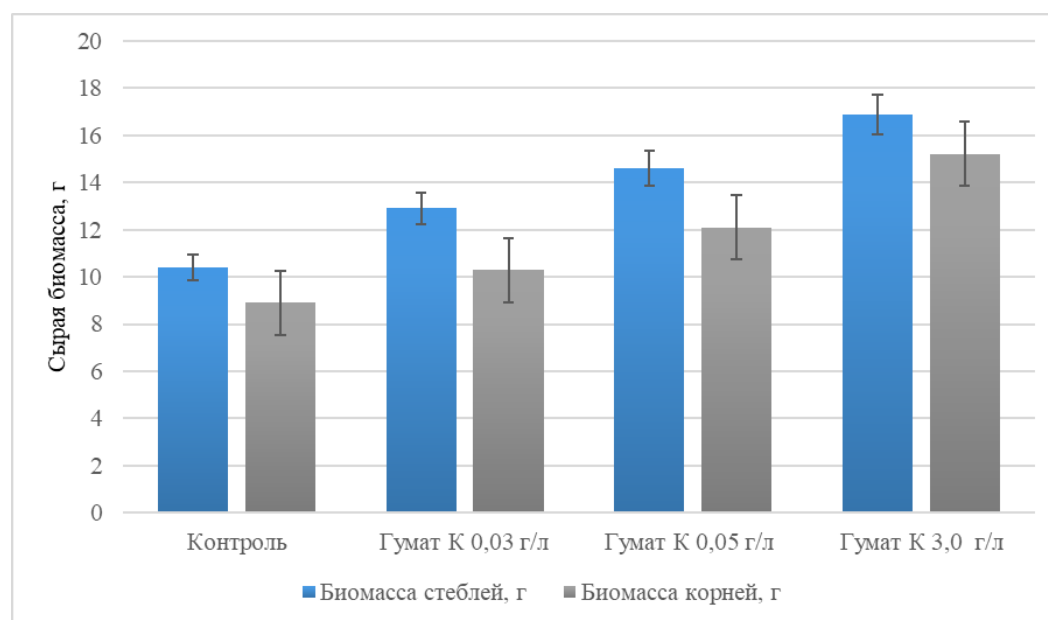
На втором этапе к базовой матрице с иммобилизованными клетками в качестве питательного вещества был добавлен гумат калия в концентрации от 0,03 до 3,0 г/л. Выбор гуминовых соединений в качестве дополнительных компонентов биопрепарата связан в первую очередь с тем, что, в частности, гумат калия является недорогим и экологически чистым источником необходимых питательных веществ для роста агрокультур. Кроме того, еще одним преимуществом их использования, является то, что они придают препарату темно-бурый цвет,

что помогает контролировать полноту протравливания семян.

Обработка семян ячменя биопрепаратом, в который был включен гумат калия, приводила к стимулированию ростовых процессов растений. Всхожесть семян увеличилась на 7,2-8,1% по сравнению с контрольным вариантом, биомасса стеблей и корней растений увеличилась на 10,3-12,7% и 12,2-15,3% соответственно. Наибольшей стимулирующей рост растений способностью обладал биопрепарат с концентрацией гумата калия 3,0 г/л (Рисунок 5).

Рисунок 5

Влияние обработки семян ячменя биопрепаратом с различными концентрациями гумата калия на их всхожесть



Определение биологических свойств биопрепарата

На этапе разработки и оптимизации биопрепарата необходимо не только оценить его микробиологическую активность, но и определить его влияние на физиологические параметры растений. Биологическая активность опытных вариантов биопрепарата оценивалась в модельных вегетационных опытах с использованием семян ячменя (*Hordeum vulgare* L.) сорта Арна.

Обработанные семена засевали в стерильную почву, увлажненную до 60% влагоёмкости. Продолжительность вегетационного периода составляла 21 сутки. Контрольной группой служи-

ли семена, не обработанные биопрепаратом, но выращенные в тех же условиях. Это позволило объективно оценить влияние обработки на рост и развитие растений на ранних стадиях онтогенеза.

Результаты вегетационных опытов показали, что предпосевная обработка семян ячменя опытными вариантами биопрепарата способствует улучшению их прорастания и всхожести (Таблица 5). В вариантах с применением биопрепаратов энергия прорастания и лабораторная всхожесть достигали 94-97%, что значительно превышает показатели контрольного варианта.

Таблица 5

Влияние обработки семян ячменя биопрепаратом на параметры вегетативного роста растений, выращенных в почве, искусственно зараженной *Fusarium graminearum*

Вариант обработки	Сырая биомасса корней, г	Сырая биомасса стеблей, г	Всхожесть, %
Контроль (без обработки)	15,3±2,4	10,8±1,1	65,7
Биопрепарат	21,4±3,2	18,5±2,7	98,6

При оценке морфометрических параметров растений выявлено увеличение длины и массы растений во всех опытных вариантах по сравнению с контролем. Наблюдалось увеличение длины корней и стеблей в 1,5 раза по сравнению с контрольной группой. Масса корневой и надземной частей также была выше, превышая контроль на 34–36%.

В результате проведённого исследования разработан многофункциональный биопрепарат на основе ассоциации агрономически ценных бактерий *Ps. flavescens* D5, *S. proteamaculans* B5 и *Ps. fluorescens* D7, иммобилизованных в биоразлагаемой полимерной матрице, сформированной из пуллулана, пектина и полигидроксисилканоата. Показано, что сформированная ассоциация LYA23 обладает высокой биологической активностью и сочетает несколько функционально значимых свойств, необходимых для создания эффективного микробного препарата для растениеводства.

Заключение

В целях повышения устойчивости растений к биотическим и абиотическим стрессам была разработана микробная ассоциация LYA23 на основе ризосферных и эндофитных бактерий

(*Ps. flavescens* D5, *S. proteamaculans* B5 и *Ps. fluorescens* D7). Штаммы были отобраны с учётом их биосовместимости и способности к стабильному сокультивированию без антагонистических взаимодействий.

Созданная ассоциация продемонстрировала выраженный синергетический эффект, обеспечивая повышение синтеза индолилуксусной кислоты по сравнению с монокультурами. Консорциум также проявлял антагонистическую активность в отношении *Fusarium spp.*, высокую фосфат-мобилизирующую способность и повышенную галотолерантность.

Полученные результаты подтверждают перспективность ассоциации LYA23 как основы для разработки многофункциональных микробных биопрепаратов, направленных на стимуляцию роста растений и повышение их адаптационного потенциала в различных почвенно-климатических условиях.

Источник финансирования

Работа выполнена в рамках проекта ГФ ИРН AP26198317 «Разработка биотехнологии защиты агрокультур от фитопатогенов, основанной на применении микробных антагонистов и их метаболитов», 2025-2027 год.

Вклад авторов

Л.В. Игнатова: Концептуализация; Методология; Научное руководство; Администрирование проекта; Привлечение финансирования; Написание – проверка и редактирование; Е.В. Бражникова: Концептуализация; Методология; Научное руководство; Администрирование проекта; Привлечение финансирования; Написание – проверка и редактирование; М.А. Червяков: Исследование; Методология; Формальный анализ; Валидация; Написание – первоначальный вариант; Е.В. Москвина: Исследование; Курирование данных; Формальный анализ; Визуализация; Написание – первоначальный вариант; А.П. Черных: Исследование; Ресурсы; Курирование данных; Валидация; Написание – проверка и редактирование; С.Р. Мурадова: Исследование; Курирование данных; Визуализация; Формальный анализ; Написание – первоначальный вариант; Р.К. Сыдыкбекова: Исследование; Ресурсы; Курирование данных; Валидация; Написание – проверка и редактирование.

Литература

Barra, P. J., Viscardi, S., Jorquera, M. A., Duran, P. A., Valentine, A. J., & de la Luz Mora, M. (2018). Understanding the strategies to overcome phosphorus-deficiency and aluminum-toxicity by ryegrass endophytic and rhizosphere phosphobacteria. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1155.

Behera, T. K., Krishna, R., Ansari, W. A., Aamir, M., Kumar, P., Kashyap, S. P., Pandey, S., & Kole, C. (2022). Approaches involved in the vegetable crops salt stress tolerance improvement: Present status and way ahead. *Frontiers in Plant Science*, *12*, 787292.

Cheng, Q., Sun, S., Ning, X., Qiao, M., Chen, W., Zhang, P., Liu, K., & Ding, Y. (2024). A synergistic indole-3-acetic acid-producing synthetic bacterial consortium benefits walnut seedling growth. *Agronomy*, *14*, 1657. <https://doi.org/10.3390/agronomy14071657>

de Andrade, L. A., Santos, C. H. B., Frezarin, E. T., Sales, L. R., & Rigobelo, E. C. (2023). Plant growth-promoting rhizobacteria for sustainable agricultural production. *Microorganisms*, *11*(4), 1088. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11041088>

Elkoca, E., Turan, M., & Dönmez, M. (2010). Effects of single, dual and triple inoculations with *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium* and *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* on nodulation, nutrient uptake, yield and yield parameters of common bean (*Phaseolus vulgaris* L. cv. 'Elkoca-05'). *Journal of Plant Nutrition*, *33*, 2104–2119.

Jagtap, R. R., Mali, G. V., Waghmare, S. R., Nadaf, N. H., Nimbalkar, M. S., & Sonawane, K. D. (2023). Impact of plant growth promoting rhizobacteria *Serratia nematodiphila* RGK and *Pseudomonas plecoglossicida* RGK on secondary metabolites of turmeric rhizome. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *47*, 102622.

Khan, M. S., Zaidi, A., & Wani, P. A. (2007). Role of phosphate-solubilizing microorganisms in sustainable agriculture – A review. *Agronomy for Sustainable Development*, *27*(1), 29–43.

Köhl, J., Kolnaar, R., & Ravensberg, W. J. (2019). Mode of action of microbial biological control agents against plant diseases: Relevance beyond efficacy. *Frontiers in Plant Science*, *10*, 845.

Liu, Y., Shi, A., Chen, Y., Xu, Z., Liu, Y., Yao, Y., Wang, Y., & Jia, B. (2024). Beneficial microorganisms: Regulating growth and defense for plant welfare. *Plant Biotechnology Journal*. <https://doi.org/10.1111/pbi.14203>

Malik, D. K., & Sindhu, S. S. (2011). Production of indole acetic acid by *Pseudomonas* sp.: Effect of coinoculation with *Mesorhizobium* sp. Cicer on nodulation and plant growth of chickpea (*Cicer arietinum*). *Physiology and Molecular Biology of Plants*, *17*(1), 25–32.

Maldonado Desena, F., De la Cruz Ceferino, N., Gómez Cornelio, S., Alvarez Villagomez, C., Herrera Candelario, J. L., & De la Rosa García, S. (2022). Bacteria halotolerant from karst sinkholes as a source of biosurfactants and bioemulsifiers. *Microorganisms*, *10*, 1264. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10061264>

Nguyen, D. N., Ton, M. N., & Le, V. (2009). Optimization of *Saccharomyces cerevisiae* immobilization in bacterial cellulose by “adsorption-incubation” method. *International Food Research Journal*, *16*, 112–118.

Olanrewaju, O. S., & Babalola, O. O. (2019). Bacterial consortium for improved maize (*Zea mays* L.) production. *Microorganisms*, *7*, 519. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7110519>

Sekar, K., Linker, S. M., Nguyen, J., Grünhagen, A., Stocker, R., & Sauer, U. (2020). Bacterial glycogen provides short-term benefits in changing environments. *Applied and Environmental Microbiology*, *86*, e00049-20.

Sharma, S., Dorairaj, D., Negi, P. S., & Shetty, N. P. (2021). Development and characterisation of a pectin-based edible film that contains mulberry leaf extract and its bio-active components. *Food Hydrocolloids*, *121*, 107046.

State Commission for Variety Testing of Agricultural Crops of the Republic of Kazakhstan. (2025, October 15). *Sort yachmenya “Arna” [Barley variety “Arna”]*. <https://sortcom.kz/ru/variety/arna>

Usmanova, A., Brazhnikova, Y., Omirbekova, A., Kistaubayeva, A., Savitskaya, I., & Ignatova, L. (2024). Biopolymers as seed-coating agent to enhance microbially induced tolerance of barley to phytopathogens. *Polymers*, *16*(3), 376. <https://doi.org/10.3390/polym16030376>

Vassilev, N., Vassileva, M., Martos, V., Garcia del Moral, L. F., Kowalska, J., Tylkowski, B., & Malusá, E. (2020). Formulation of microbial inoculants by encapsulation in natural polysaccharides: Focus on beneficial properties of carrier additives and derivatives. *Frontiers in Plant Science*, *11*, 270.

Сведения об авторах:

Игнатова Людмила Викторовна – профессор кафедры биотехнологии факультета биологии и биотехнологии НАО «Казахский национальный университет имени аль-Фараби» (Алматы, Казахстан, e-mail: lyudmila.ignatova@kaznu.kz).

Бражникова Елена Валериевна – PhD, преподаватель кафедры биотехнологии факультета биологии и биотехнологии НАО «Казахский национальный университет имени аль-Фараби» (Алматы, Казахстан, e-mail: polb_4@mail.ru).

Червяков Михаил Александрович (корреспондентный автор) – научный исследователь кафедры биотехнологии факультета биологии и биотехнологии НАО «Казахский национальный университет имени аль-Фараби» (Алматы, Казахстан, e-mail: mihach999@gmail.com).

Москвина Екатерина Вячеславовна – младший научный сотрудник кафедры биотехнологии факультета биологии и биотехнологии НАО «Казахский национальный университет имени аль-Фараби» (Алматы, Казахстан, e-mail: katysha0205@gmail.com).

Черных Ангелина Петровна – младший научный сотрудник кафедры биотехнологии факультета биологии и биотехнологии НАО «Казахский национальный университет имени аль-Фараби» (Алматы, Казахстан, e-mail: Angelina_gizbreht@mail.ru).

Мурадова Сусана Рустамқызы – научный исследователь кафедры биотехнологии факультета биологии и биотехнологии НАО «Казахский национальный университет имени аль-Фараби» (Алматы, Казахстан, e-mail: muradova.susana@mail.ru).

Сыдыкбекова Райхан Конаевна – доцент кафедры биотехнологии факультета биологии и биотехнологии НАО «Казахский национальный университет имени аль-Фараби» (Алматы, Казахстан, e-mail: raihan.konaevna@gmail.com).

Information about authors:

Ignatova Lyudmila Viktorovna – Professor of the Department of Biotechnology, Faculty of Biology and Biotechnology, NJSC Al-Farabi Kazakh National University (Almaty, Kazakhstan, e-mail: lyudmila.ignatova@kaznu.kz)

Brazhnikova Elena Valerievna – PhD, Lecturer of the Department Biotechnology, Faculty of Biology and Biotechnology, NJSC Al-Farabi Kazakh National University (Almaty, Kazakhstan, e-mail: polb_4@mail.ru).

Chervyakov Mikhail Alexandrovich (corresponding author) – Researcher, Department of Biotechnology, Faculty of Biology and Biotechnology, NJSC Al-Farabi Kazakh National University (Almaty, Kazakhstan, e-mail: mihach999@gmail.com).

Moskvina Ekaterina Vyacheslavovna – Research Assistant, Department of Biotechnology, Faculty of Biology and Biotechnology, NJSC Al-Farabi Kazakh National University (Almaty, Kazakhstan, e-mail: katysha0205@gmail.com).

Chernykh Angelina Petrovna – Research Assistant, Department of Biotechnology, Faculty of Biology and Biotechnology, NJSC Al-Farabi Kazakh National University (Almaty, Kazakhstan, e-mail: Angelina_gizbreht@mail.ru).

Muradova Susana Rustamkyzy – Researcher, Department of Biotechnology, Faculty of Biology and Biotechnology, NJSC Al-Farabi Kazakh National University (Almaty, Kazakhstan, e-mail: muradova.susana@mail.ru).

Sydykbekova Raikhan Konaevna – Associate Professor at the Department Biotechnology, Faculty of Biology and Biotechnology, NJSC Al-Farabi Kazakh National University (Almaty, Kazakhstan, e-mail: raihan.konaevna@gmail.com).

Авторлар туралы мәлімет:

Игнатова Людмила Викторовна – Әл-Фараби атындағы ҚазҰУ КеАҚ Биология және биотехнология факультетінің Биотехнология кафедрасының профессоры (Алматы, Қазақстан, e-mail: lyudmila.ignatova@kaznu.kz).

Бражникова Елена Валериевна – Әл-Фараби атындағы ҚазҰУ КеАҚ Биология және биотехнология факультетінің Биотехнология кафедрасының PhD докторы, оқытушысы (Алматы, Қазақстан, e-mail: polb_4@mail.ru).

Червяков Михаил Александрович (корреспондент-автор) – Әл-Фараби атындағы ҚазҰУ КеАҚ Биология және биотехнология факультетінің Биотехнология кафедрасының ғылыми қызметкері (Алматы, Қазақстан, e-mail: mihach999@gmail.com).

Москвина Екатерина Вячеславовна – Әл-Фараби атындағы ҚазҰУ КеАҚ Биология және биотехнология факультетінің Биотехнология кафедрасының кіші ғылыми қызметкері (Алматы, Қазақстан, e-mail: katysha0205@gmail.com).

Черных Ангелина Петровна – Әл-Фараби атындағы ҚазҰУ КеАҚ Биология және биотехнология факультетінің Биотехнология кафедрасының кіші ғылыми қызметкері (Алматы, Қазақстан, e-mail: Angelina_gizbreht@mail.ru).

Мурадова Сусана Рустамқызы – Әл-Фараби атындағы ҚазҰУ КеАҚ Биология және биотехнология факультетінің Биотехнология кафедрасының ғылыми қызметкері (Алматы, Қазақстан, электрондық пошта: muradova.susana@mail.ru).

Сыдыкбекова Райхан Конаевна – Әл-Фараби атындағы ҚазҰУ КеАҚ Биология және биотехнология факультетінің Биотехнология кафедрасының доценті (Алматы, Қазақстан, e-mail: raihan.konaevna@gmail.com).

Поступило 15 августа 2025 года

Принято 20 февраля 2026 года