



Научная статья/Research Article

УДК 579.64

DOI: 10.36718/1819-4036-2025-9-3-24

Полина Александровна Аболенцева^{1✉}, Софья Владимировна Овсянкина²,
Владимир Владимирович Величко³, Наталья Александровна Тихомирова⁴

^{1,2}Красноярский государственный аграрный университет, Красноярск, Россия

³Сибирский государственный университет науки и технологий им. М.Ф. Решетнева,
Красноярск, Россия

^{3,4}КНЦ СО РАН, Красноярск, Россия

¹polina18.ti@gmail.com

²sofi-kras@mail.ru

³vladimir_velitchko@hotmail.com

⁴n.a.tikhomirova@list.ru

МИКРОБНОЕ СООБЩЕСТВО ПОЧВОПОДОБНОГО СУБСТРАТА КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ ИСТОЧНИК НЕСИМБИОТИЧЕСКИХ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ ШТАММОВ

Цель исследования – проверить потенциал почвоподобного субстрата (ППС), являющегося продуктом биоконверсии несъедобной фитомассы в биолого-технических системах жизнеобеспечения, в качестве источника азотфиксирующих штаммов для улучшения азотного питания растений. Объекты исследования – азотфиксирующие штаммы *Azotobacter chroococcum* H1, *A. chroococcum* H2 и *A. chroococcum* H3, выделенные авторами из ППС. Объектом для сравнения служил выделенный авторами из почвы сельскохозяйственного назначения азотфиксирующий штамм *Azomonas macrocytogenes* OSV2, ранее показавший свою эффективность в полевых экспериментах в составе комплексного биопрепарата. Тест-объектами служили растения кресс-салата *Lepidium sativum* L. сорта Московский парниковый, выращиваемые в климатической камере в песчаной культуре в условиях дефицита азота. Бактеризация всеми штаммами статистически значимо увеличила ростовые показатели растений салата в целом по совокупности ростовых показателей, наибольшую прибавку обеспечил штамм H3, благодаря которому средние значения массы и длины корневой системы выросли соответственно в 2,14 и 1,1 раза, массы и длины надземной части – в 1,5 и 1,31 раза, а массы и длины всего растения – в 1,68 и 1,19 раза относительно небактеризованного контроля. Бактеризация всеми штаммами также статистически значимо повысила содержание пигментов фотосинтетического аппарата (в 1,4–13,1 раза относительно контроля в пересчете на сырой вес листьев и в 1,2–11,9 раз в пересчете на сухой вес), а также повысила отношение суммы хлорофиллов а и b к каротиноидам в 1,1–1,6 раза. Однако в данном случае по эффективности лидировал штамм OSV2. Бактеризация всеми изученными штаммами повысила содержание азота в растениях. Наибольший эффект в плане стимулирования роста растений и повышения содержания пигментов фотосинтетического аппарата обеспечила бактериализация смесью штаммов H1, H2, H3 и OSV2, что позволяет говорить о наличии синергизма в их воздействии на растение.

Ключевые слова: почвоподобный субстрат, азотфиксирующие штаммы, *Azotobacter chroococcum*, *Azomonas macrocytogenes*, *Lepidium sativum*, восполнение дефицита азота

Для цитирования: Аболентцева П.А., Овсянкина С.В., Величко В.В., и др. Микробное сообщество почвоподобного субстрата как потенциальный источник несимбиотических азотфиксирующих штаммов // Вестник КрасГАУ. 2025. № 9. С. 3–24. DOI: 10.36718/1819-4036-2025-9-3-24.

Финансирование: исследование выполнено при финансовой поддержке Минобрнауки РФ в рамках Госзадания FWES-2024-0039.

Polina Aleksandrovna Abolentseva^{1✉}, **Sofia Vladimirovna Ovsyankina**²,
Vladimir Vladimirovich Velichko³, **Natalia Aleksandrovna Tikhomirova**⁴

^{1,2}Krasnoyarsk State Agrarian University, Krasnoyarsk, Russia

³Reshetnev Siberian State University of Science and Technology, Krasnoyarsk, Russia

^{3,4}KSC SB RAS, Krasnoyarsk, Russia

¹polina18.ti@gmail.com

²sofi-kras@mail.ru

³vladimir_velitchko@hotmail.com

⁴n.a.tikhomirova@list.ru

MICROBIAL COMMUNITY OF SOIL-LIKE SUBSTRATE AS A POTENTIAL SOURCE OF NON-SYMBIOTIC NITROGEN-FIXING STRAINS

*The aim of the study is to test the potential of a soil-like substrate (SLS), which is a product of bioconversion of inedible phytomass in biological and technical life support systems, as a source of nitrogen-fixing strains to improve nitrogen nutrition of plants. The objects of the study were nitrogen-fixing strains *Azotobacter chroococcum* H1, *A. chroococcum* H2 and *A. chroococcum* H3, isolated by the authors from SLS. The object for comparison was the nitrogen-fixing strain *Azomonas macrocytogenes* OSV2, isolated by the authors from agricultural soil, which had previously shown its effectiveness in field experiments as part of a complex biopreparation. The test objects were *Lepidium sativum* L. cress plants of the Moskovsky Greenhouse variety, grown in a climatic chamber in a sand culture under nitrogen deficiency conditions. Bacterization with all strains statistically significantly increased the growth indices of lettuce plants as a whole in terms of the totality of growth indices, the greatest increase was provided by strain H3, due to which the average values of the root system weight and length increased by 2.14 and 1.1 times, respectively, the weight and length of the aboveground part – by 1.5 and 1.31 times, and the weight and length of the whole plant – by 1.68 and 1.19 times relative to the non-bacterial control. Bacterization with all strains also statistically significantly increased the content of photosynthetic apparatus pigments (by 1.4–13.1 times relative to the control in terms of the fresh weight of leaves and by 1.2–11.9 times in terms of dry weight), and also increased the ratio of the sum of chlorophylls a and b to carotenoids by 1.1–1.6 times. However, in this case, strain OSV2 was the leader in efficiency. Bacterization with all the studied strains increased the nitrogen content in plants. The greatest effect in terms of stimulating plant growth and increasing the content of pigments of the photosynthetic apparatus was provided by bacterization with a mixture of strains H1, H2, H3 and OSV2, which allows us to talk about the presence of synergism in their effect on the plant.*

Keywords: soil-like substrate, nitrogen-fixing strains, *Azotobacter chroococcum*, *Azomonas macrocytogenes*, *Lepidium sativum*, replenishment of nitrogen deficiency

For citation: Abolentseva PA, Ovsyankina SV, Velichko VV, et al. Microbial community of soil-like substrate as a potential source of non-symbiotic nitrogen-fixing strains. *Bulletin of KSAU*. 2025;(9):3-24. (In Russ.). DOI: 10.36718/ 1819-4036-2025-9-3-24.

Funding: the study was funded by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation under the State Assignment FWES-2024-0039.

Введение. Азот является важнейшим элементом минерального питания растений. Атомы азота входят в состав аминокислот и состоящих

из них белков, нуклеотидов и нуклеиновых кислот, хлорофилла и ряда других жизненно важных молекул. По содержанию в растениях азот

занимает четвертое (после углерода, водорода и кислорода) место, а среди поступающих из почвы элементов минерального питания – первое [1]. В связи с тем, что при возделывании сельскохозяйственных культур происходит постоянный вынос азота из почвы (в первую очередь – за счет вывоза с полей продукции растениеводства, а также с ирригационными водами и за счет процессов денитрификации), обеспечение растений азотом рассматривается в качестве одной из ключевых проблем мировой продовольственной безопасности [2]. Исторически проблема восполнения дефицита азота в почве решалась за счет применения сначала органических, а затем – минеральных азотсодержащих удобрений. Однако в последние десятилетия все большее внимание уделяется микробиологическим удобрениям, основанным на азотфиксирующих прокариотических микроорганизмах, способных переводить атмосферный азот в доступную для растений форму. Подобные удобрения рассматриваются как безопасная для окружающей среды и при этом дешевая альтернатива химическим азотным удобрениям [3–5], что обуславливает непрерывный рост их производства. Так, в одном только в Китае по состоянию на 2024 г. производство микробиологических удобрений составило 35 млн т, а объем рынка подобных удобрений превысил 5,5 млрд долларов США в год [6].

Азотфиксирующие микроорганизмы обнаружены в трех крупных таксонах (Bacteria, Cyanobacteria и Archaea) и включают представителей более 30 родов. Среди них есть как симбиотические виды, способные к фиксации атмосферного азота лишь в составе симбиотической ассоциации с определенными видами растений (представители р.р. *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*), «полусимбиотические» виды, способные к фиксации азота как в составе симбиотической ассоциации с растениями, так и вне такой ассоциации (представители р.р. *Frankia* и *Anabaena*), а также несимбиотические (свободноживущие) виды, не образующие симбиотических ассоциаций с растениями (представители р.р. *Azotobacter*, *Azomonas*, *Mycobacterium*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Nostoc*, *Tolypothrix*, *Anabaenopsis*, а также семейств *Methanococcales*, *Methanobacteriales*, *Methanomicrobiales* и др.) [7]. В настоящее время наибольшее внимание с точки зрения производства микробиологических удобрений уделяется несимбиотическим азот-

фиксаторам. Несколько уступая симбиотическим видам в эффективности с точки зрения обеспечения растений азотом, несимбиотические виды имеют радикальное преимущество в том, что способны колонизовать ризосферу широкого круга сельскохозяйственных культур. Таким образом, применение микробных удобрений, основанных на несимбиотических азотфиксаторах, не ограничивается строго определенными видами растений, как в случае симбиотических видов.

Несмотря на таксономическое разнообразие свободноживущих азотфиксирующих микроорганизмов, практическое применение в качестве микробиологических удобрений для «сухопутных» агроценозов нашли главным образом бактерии р. *Azotobacter* (в который часто включают вид *Azomonas macrocytogenes*, являющийся синонимом *Azotobacter macrocytogenes*), р. *Azospirillum* (последние – преимущественно для тропических и субтропических климатических зон), а для обводненных агроценозов (рисовых полей) – цианобактерии р.р. *Anabaena*, *Tolypothrix* и *Nostoc* [8–12].

Несмотря на отмечаемые многочисленными авторами несомненные преимущества микробиологических удобрений перед химическими, рынок микробиологических удобрений все еще сильно отстает от рынка химических удобрений. Так, согласно уже цитированной статье [6], в 2024 г. в Китае объем рынка химических удобрений в 7,7 раза превышал объем рынка микробиологических, сходная картина наблюдается и в других странах. Основной причиной такой ситуации является недостаток штаммов, обеспечивающих надежную и эффективную замену химическим удобрениям, а также сильная зависимость используемых штаммов от конкретных почвенно-климатических условий. В этой связи во всем мире продолжается поиск новых штаммов для производства микробиологических удобрений, причем основной упор делается на азотфиксирующие штаммы. Настоящая работа посвящена поиску несимбиотических азотфиксирующих штаммов в таком нетрадиционном источнике, как используемый в биотехнических системах жизнеобеспечения почвоподобный субстрат, и оценке потенциала этих штаммов с точки зрения применения в растениеводстве.

Цель исследования – проверить потенциал почвоподобного субстрата (ППС), являющегося

продуктом биоконверсии несъедобной фитомассы в биолого-технических системах жизнеобеспечения, в качестве источника азотфиксирующих штаммов для улучшения азотного питания растений.

Объекты и методы. Объектами исследования служили 4 штамма несимбиотических азотфиксирующих бактерий: штаммы *Azotobacter chroococcum* H1, *Azotobacter chroococcum* H2, *Azotobacter chroococcum* H3 и штамм *Azomonas macrocytogenes* OSV2. Штаммы *A. chroococcum* H1, *Azotobacter chroococcum* H2, *Azotobacter chroococcum* H3 выделены авторами из почвоподобного субстрата (ППС), используемого в качестве субстрата для выращивания растений в биолого-технических системах жизнеобеспечения (БТСЖО), предназначенных для обеспечения жизнедеятельности человека в экстремальных условиях (в первую очередь – в условиях будущих внеземных баз). Данный субстрат получается при биологической конверсии несъедобной

растительной биомассы по следующей схеме: 1) выращивание гриба вешенка *Pleurotus ostreatus* на растительных остатках до получения плодовых тел, которые служат дополнительным элементом рациона экипажа; 2) вермикомпостирование субстрата, оставшегося после сбора плодовых тел *P. ostreatus*, с помощью красных калифорнийских червей *Eisenia andre* [13]. Штаммы представлены крупными (1,5–2,3 × 2,5–7,4 мкм) подвижными палочками, одиночными и в парах, с капсулами и без, сходными у всех трех штаммов. Штамм OSV2 выделен авторами из почвы сельскохозяйственного назначения в Красноярском крае и использован для сравнения со штаммами из ППС. В молодой культуре штамм представлен крупными (1,5–2,4 × 1,7–4,1 мкм) подвижными палочками, одиночными и в парах, в старой культуре – кокковидными клетками диаметром 1,5–2,5 мкм, склонными к формированию слизистых капсул; клетки внутри капсул могут достигать диаметра 3,5 мкм (рис. 1).

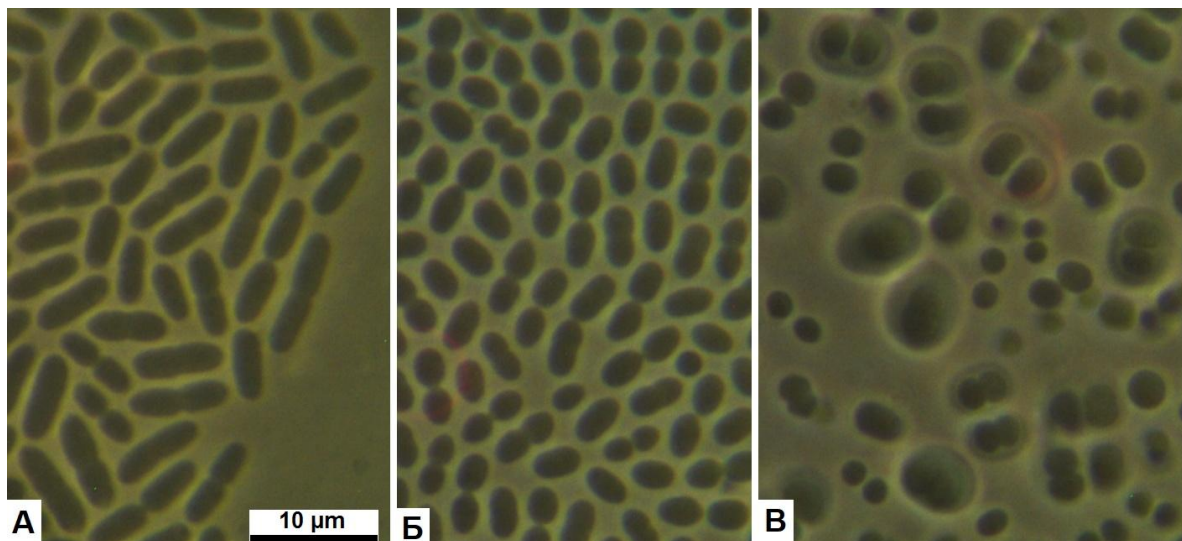


Рис. 1. Характерный вид клеток изучаемых штаммов: А – штамм H1; Б – штамм OSV2, молодая культура; В – штамм OSV2, старая культура; длина масштабной полоски 10 мкм
Typical shape of cells of the studied strains: A – strain H1; Б – strain OSV2, young culture; В – strain OSV2, old culture; scale bar length 10 μm

В 2023 г. данный штамм был успешно апробирован авторами статьи в полевых условиях в качестве азотфиксатора в составе комплексного биопрепарата при выполнении проекта «Разработка биопрепарата комплексного действия для защиты и стимулирования роста картофеля в технологиях производства органической сельскохозяйственной продукции» по заказу Министерства сельского хозяйства Российской Феде-

рации (отчет 224021300245-ЗЕГИСУ НИОКТР). Видовая идентификация всех изучаемых штаммов проведена в БРЦ ВКПМ на основе нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК.

Тест-культурой служил кресс-салат *Lepidium sativum* L. сорта Московский парниковый, выращиваемый в условиях дефицита азота. Эксперимент включал 7 вариантов (табл. 1).

Схема эксперимента
The design of the experiment

Вариант	Описание
Контроль	Выращивание растений в условиях дефицита азота без бактеризации
Раствор Кнопа	Выращивание растений на среде Кнопа
OSV2	Выращивание растений в условиях дефицита азота при бактеризации штаммом OSV2
H1	Выращивание растений в условиях дефицита азота при бактеризации штаммом H1
H2	Выращивание растений в условиях дефицита азота при бактеризации штаммом H2
H3	Выращивание растений в условиях дефицита азота при бактеризации штаммом H3
Смесь штаммов	Выращивание растений в условиях дефицита азота при бактеризации смесью штаммов OSV2, H1, H2 и H3

В вариантах контроль, а также в вариантах с бактеризацией изучаемыми штаммами растения поливали не содержащим азота минеральным раствором следующего состава, г/л: K_2SO_4 – 0,44; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,49; $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ – 0,345; KH_2PO_4 – 0,132; $CuSO_4 \cdot 2H_2O$ – 0,025; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,0278; $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ – 0,025; $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ – 0,0223. За основу этого раствора был взят состав, использованный в работе [14] для приготовления безазотистого минерального раствора для выращивания растений в условиях песчаной культуры. В варианте раствор Кнопа растения поливали стандартным раствором Кнопа следующего состава, г/л: KNO_3 – 0,518; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,49; $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ – 0,0472; KH_2PO_4 – 0,132; $CuSO_4 \cdot 2H_2O$ – 0,025; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,0278; $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ – 0,025; $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ – 0,0223. В качестве источника микроэлементов в оба раствора добавляли 1 мл/л раствора микросолей по Федорову следующего состава, г/л: H_3BO_3 – 5; $(NH_4)_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ – 5; $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,2; KI – 0,5; $NaBr$ – 0,5; $Al_2(SO_4)_3 \cdot 18H_2O$ – 0,3. Данный набор микроэлементов используется при культивировании азотфиксирующих бактерий, в первую очередь – благодаря наличию молибдена, входящего в состав нитрогеназы. pH растворов составлял 6,5.

Семена дезинфицировали 3,5 % раствором гипохлорита натрия, после чего многократно промывали стерильной водой и высевали в растильни с песком, предварительно простерилизованным автоклавированием при 121 °C, по

100 семян в каждом варианте, глубина посадки составляла 7–10 мм. В вариантах с бактеризацией семена перед высевом в песок бактеризовали погружением в суспензию соответствующего штамма с титром 10^8 клеток на 1 мл. В варианте смесь штаммов суспензию для бактеризации получали путем смешивания в равных пропорциях суспензий штаммов OSV2, H1, H2 и H3 с титрами 10^8 клеток на 1 мл. Суспензии для бактеризации получали путем смыва стерильной водой клеток соответствующих штаммов с 72-часовых культур, выращенных на агаризованной среде Эшби следующего состава: $MgSO_4$ – 0,2 г/л; $NaCl$ – 0,2; KH_2PO_4 – 0,1; K_2SO_4 – 0,1; $FeSO_4$ – следовые количества; глюкоза – 20; агар-агар микробиологический – 14 г/л; микросоли по Федорову – 1 мл/л. Замена традиционно используемого в среде Эшби маннита на глюкозу была обусловлена тем, что, согласно предварительным экспериментам, глюкоза в качестве источника углерода обеспечивает более быстрое накопление биомассы у изучаемых штаммов. Титр клеток в суспензиях определяли на мутномере Densi-La-Meter II по предварительно построенным для каждого штамма калибровочным кривым.

После посева в растильни семена проращивали в темноте при температуре (22 ± 1) °C. После появления первых всходов (на 3-е сут от посева) растильни инкубировали в климатической камере U-7250 при следующем режиме: фотопериод 16 ч – день, 8 ч – ночь, освещенность – 12000 лк, влажность – 70 %, температу-

ра: ночь – 22 °С, день – 26 °С. Полив растений в климатической камере осуществляли ежедневно до постоянного веса. Через 28 сут после появления первых всходов была проведена повторная бактеризация путем точечного полива проростков суспензиями клеток соответствующих штаммов, по 13 мл суспензии с титром 10^8 клеток на 1 мл на каждый проросток; суспензии готовили так же, как и для бактеризации семян. Перед повторной бактеризацией проверили присутствие изучаемых штаммов в ризосфере проростков и оценили их численность. Для проверки присутствия азотфиксирующих штаммов использовали метод отпечатков корневой системы на агаризованной среде Эшби с последующим микроскопированием *in situ* 24-суточных микроколоний, выросших на отпечатках. Для оценки численности использовали высев из смывов с корневой системы проростков (по 5 проростков на каждый вариант эксперимента) на агаризованную среду Эшби с последующей микроскопией выросших колоний. Отпечатки и высева делали для всех вариантов эксперимента.

На ранних стадиях вегетации ежедневно учитывали число проростков салата в каждом варианте вплоть до прекращения увеличения их числа. Отказ от использования рекомендуемых ГОСТ 12038-84 «Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести» показателей «энергия прорастания» и «всхожесть», учитываемых соответственно через 3 и 5 сут, объясняется тем, что в нашем эксперименте семена находились в условиях, отличающихся от обозначенных в ГОСТ (заглублены в песок, а не разложены на влажной фильтровальной бумаге). Через 35 сут после появления первых всходов учитывали сырую массу и длину надземной части растения и корневой системы, общую длину и сырую массу растений, а также корнеобеспеченность как отношение массы корневой системы к массе надземной части.

Кроме этого, оценивали состояние фотосинтетического аппарата растений и определяли их минеральный состав. Состояние фотосинтетического аппарата оценивали по концентрации пигментов фотосинтетического аппарата (хлорофиллы а, b и каротиноиды). Экстракцию пигментов проводили 96 % этанолом. Масса навески составляла не менее 0,3 г. Содержание фотосинтетических пигментов в листьях салата определяли на спектрофотометре UV-2804

(UNICO, США) и рассчитывали по формулам Wintermans, DeMots [15].

Содержание Ca, K, Mg, P и S в пробах определяли методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой с помощью спектрометра iCAP 6300 Duo (Thermo Scientific, U.K.). Пробы перед анализом минерализовали методом мокрого сжигания в смеси азотной и хлорной кислот (1 : 1). Подробное описание методики анализа можно найти в работе [16]. Для определения содержания нитратного азота в образцах использовалась методика водной экстракции нитратов, восстановления их до нитритов на кадмиевой колонке с последующим взаимодействием с реактивом Грисса (сульфаниламидом и а-нафтиламином) на светофильтре 540 нм (РД 52.24.380-2017. Массовая концентрация нитратного азота в водах. Методика измерений фотометрическим методом с реактивом Грисса после восстановления в кадмиевом редуторе. Росгидромет, ГХИ. Ростов-н/Д, 2017). Содержание органического азота определяли методом Кьельдаля по реакции аммонийного азота с реактивом Несслера с детекцией на длине волны 440 нм [17].

Математическую обработку полученных данных выполняли с помощью пакета StatSoft STATISTICA 8.0. Для сравнения вариантов по числу проростков использовали тест χ^2 (хи-квадрат), а в случае сравнения вариантов с контролем – точный тест Фишера для таблиц 2×2. Сравнение вариантов с контролем по ростовым показателям растений (масса, длина, корнеобеспеченность), а также по содержанию пигментов фотосинтетического аппарата проводили с помощью двухвыборочного t-теста. Сравнение вариантов по комплексу показателей проводили с помощью дискриминантного анализа, а также на основе проекций из пространства изучаемых признаков на первые две главные компоненты. Кроме этого, для сравнения вариантов по набору изучаемых показателей использовали непараметрические тесты (парный двухвыборочный тест Уилкоксона и ранговый дисперсионный анализ Фридмана). Связь между ростовыми показателями растений проверяли корреляционным анализом отдельно для каждого варианта с последующим анализом корреляционных матриц методом главных компонент. Сходство вариантов по наборам показателей оценивали проекцией на первые две главные компоненты, а также кластерным анализом;

для того чтобы избежать влияния различий в размерности показателей на результаты кластеризации, при проведении кластерного анализа использовали стандартизованные данные.

Результаты и их обсуждение

Эффективность колонизации ризосферы изучаемыми штаммами после бактери-зации семян. Метод отпечатков показал, что

через 28 сут после бактеризации семян характерные для изучаемых штаммов клетки присутствуют во всех бактеризованных вариантах, формируя микроколонии на среде Эшби по всему отпечатку (рис. 2). Это говорит о том, что все изучаемые штаммы продемонстрировали способность приживаться в ризосфере после однократной предпосевной бактеризации семян.

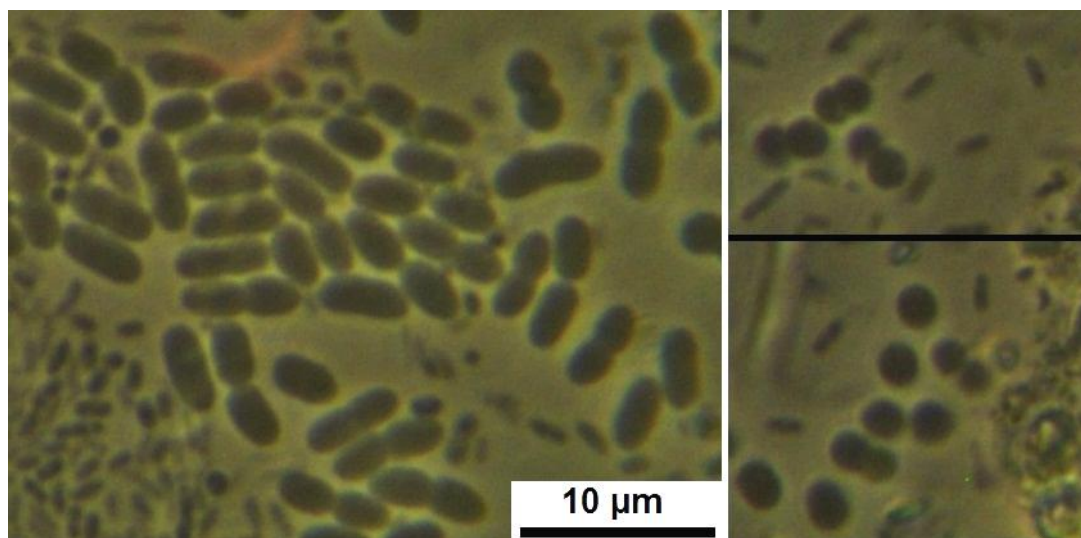


Рис. 2. Рост изучаемых штаммов в отпечатках с корней бактеризованных проростков: штамм H1 (слева) и штамм OSV2 (справа); мелкие клетки – эндофитные бактерии; длина масштабной полоски 10 мкм

Growth of the studied strains in root imprints of bacterized seedlings: strain H1 (left) and strain OSV2 (right); small cells are endophytic bacteria; scale bar length is 10 μ m

В отпечатках корней проростков из небактеризованных вариантов подобные клетки не выявлены. В то же время во всех вариантах

выявлено достаточно большое разнообразие бактерий, не относящихся к изучаемым штаммам (рис. 3).

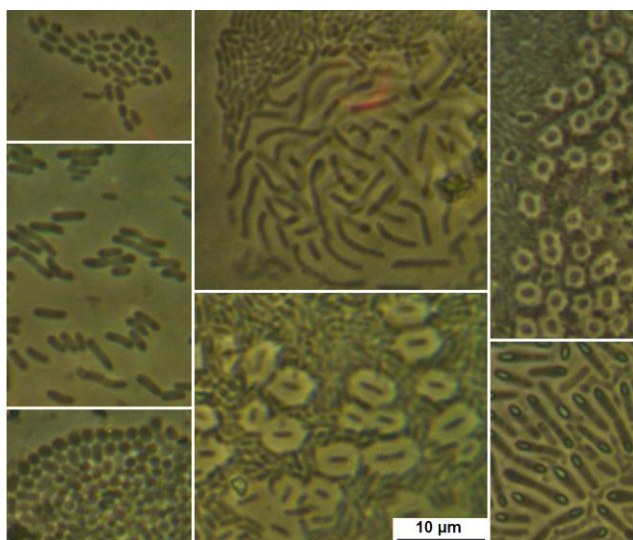


Рис. 3. Примеры эндофитных бактерий в отпечатках с корней проростков; длина масштабной полоски 10 мкм

Examples of endophytic bacteria in seedling root imprints; scale bar length 10 μ m

Поскольку семена перед высевом дезинфицировали, а субстрат был предварительно простерилизован, можно заключить, что речь идет об эндофитных бактериях, находившихся под оболочкой семян либо непосредственно в семенах. В последние годы эндофитные бактерии рассматриваются как обширная группа бактерий, способных колонизовать семена либо растительные ткани не только без вреда для растения-хозяина, но и во многих случаях стимулируя рост растений, повышая их устойчивость к биотическим и абиотическим стрессам и улучшая способность растений к поглощению минеральных веществ. При этом максимальное количество эндофитных бактерий приходится на корневую систему растения, что позволяет ряду авторов рассматривать их как подгруппу ризосферных бактерий [18].

Несмотря на то, что все изучаемые штаммы успешно колонизовали ризосферу, высевы из смывов с корней проростков показали, что численность этих штаммов невысока и для всех

штаммов составляет порядка 10^2 КОЕ на проросток. В этой связи проведенную нами повторную бактеризацию проростков следует считать оправданной.

Влияние бактеризации на прорастание семян и развитие растений салата. На протяжении всего периода от появления первых всходов до прекращения появления новых всходов динамика прорастания в разных вариантах не имела статистически значимых различий. Исключение составил вариант с бактеризацией штаммом OSV2, который статистически значимо ($p < 0,001$) отставал от остальных вариантов как по динамике появления всходов, так и по итоговому числу проростков. Так, на 7-е сут всхожесть в варианте OSV2 уступала среднему значению всходов в остальных вариантах практически в 2 раза (33 против 60,2 %), этот разрыв сохранился до завершения появления новых всходов на 14-е сут (43 против 74,2 %) (рис. 4).

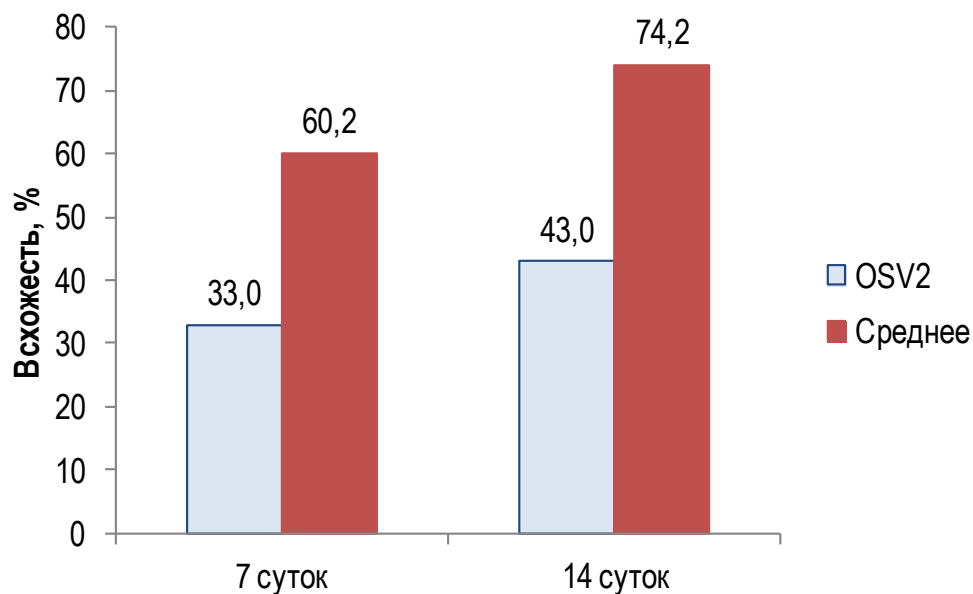


Рис. 4. Всхожесть салата в варианте OSV2 в сравнении со средним значением по остальным вариантам

Germination of lettuce in the OSV2 variant compared to the average value for the other variants

Дефицит азота вполне ожидаемо статистически значимо снизил средние значения всех ростовых характеристик растений салата, за исключением корнеобеспеченности. Отсутствие статистически значимого влияния дефицита азота на корнеобеспеченность объясняется пропорциональным снижением в этом варианте как

массы корней, так и массы надземной части. В то же время снижение ростовых показателей в варианте с дефицитом азота (в 1,2–2,6 раза относительно варианта с нормальной обеспеченностью азотом) оказалось далеко не столь значительным, как можно было ожидать (табл. 2).

Влияние дефицита азота на ростовые характеристики растений салата
Effect of nitrogen deficiency on growth characteristics of lettuce plants

Показатель	Раствор Кноп	Контроль	Раствор Кноп/контроль	Статистическая значимость различий, р
Длина растения, мм	129,73	100,22	1,29	< 0,001
Масса растения, г	0,68	0,27	2,55	< 0,001
Длина корня, мм	70,59	58,62	1,20	< 0,001
Масса корня, г	0,17	0,07	2,41	< 0,001
Длина надземной части, мм	59,14	41,60	1,42	< 0,001
Масса надземной части, г	0,51	0,19	2,61	< 0,001
Корнеобеспеченность	0,37	0,51	0,73	Нет

Можно предположить, что дефицит азота в контрольном варианте был частично восполнен азотфиксаторами, присутствовавшими среди упомянутых выше эндофитных бактерий. Действительно, многочисленными исследованиями показано присутствие среди эндофитных бактерий азотфиксирующих штаммов самой разной таксономической принадлежности [19].

Бактеризация штаммом НЗ, а также смесью штаммов, статистически значимо (от $p < 0,05$ до $p < 0,001$) повысила все ростовые характеристики растений салата, за исключением корнеобеспеченности, в 1,1–2,44 раза относительно контрольного варианта. Бактеризация штаммом Н2 статистически значимо увеличила средние значения длины и массы растения, а также длины и массы надземной части (соответствен-

но в 1,12; 1,25; 1,22 и 1,25 раза относительно контроля). Бактеризация штаммом Н1 хотя и повысила среднюю длину и массу растений, среднюю длину и массу корня, а также среднюю длину надземной части, но это повышение было небольшим (в зависимости от показателя – в 1,03–1,19 раза относительно контроля), и статистическая значимость различий с контролем не доказана. Бактеризация штаммом OSV2 статистически значимо повысила среднюю массу растений и среднюю массу корня (соответственно в 1,79 и 3,65 раз относительно контроля), несколько снизила среднюю длину надземной части растений (на 10 % относительно контроля) и повысила корнеобеспеченность (в 2,86 раза относительно контроля).

Таблица 3

Влияние бактеризации на ростовые характеристики растений салата
Effect of bacterization on growth characteristics of lettuce plants

Показатель	OSV2		Н1		Н2		НЗ		Смесь штаммов	
Длина растения, мм	98,97	0,99	106,8	1,07	112,63**	1,12	119,0***	1,19	118,4***	1,18
Масса растения, г	0,48***	1,79	0,28	1,03	0,33*	1,25	0,45***	1,68	0,5***	1,88
Длина корня, мм	61,66	1,05	62,16	1,06	61,89	1,06	64,54*	1,1	67,29**	1,15
Масса корня, г	0,26***	3,65	0,09	1,19	0,09	1,27	0,16***	2,14	0,18***	2,44
Длина надземной части, мм	37,31*	0,9	44,65	1,07	50,75***	1,22	54,49***	1,31	51,11***	1,23
Масса надземной части, г	0,21	1,09	0,21	1,05	0,24*	1,25	0,32***	1,62	0,32***	1,66
Корнеобеспеченность	1,47***	2,86	0,37	0,71	0,53	1,03	0,47	0,92	0,56	1,09

Примечание: для каждого варианта в первом столбце показано среднее значение показателя, во втором – отношение среднего значения к среднему значению соответствующего показателя в контроле; (*) – статистическая значимость различий с контролем $p < 0,05$; (**) – статистическая значимость различий с контролем $p < 0,01$; (***) – статистическая значимость различий с контролем $p < 0,001$.

Следует отметить, что двухвыборочный t-тест, примененный для расчета статистической значимости различий между бактеризованными вариантами и контролем, не лишен недостатков. Этот тест адекватно работает с индивидуальными показателями, однако не учитывает величины и направленности одновременного изменения целого набора показателей. В этой связи в качестве дополнительных тестов для сравнения бактеризованных вариантов между собой и с контролем были применены дискриминантный анализ (который при сравнении вариантов одновременно работает со всем набором изучаемых показателей), а также тесты

для связанных выборок (тест Уилкоксона в случае сравнения двух вариантов) и непараметрический дисперсионный анализ Фридмана (в случае одновременного сравнения нескольких вариантов), которые отслеживают направленность изменения набора показателей.

Дискриминантный анализ показал, что по набору изученных ростовых показателей растений все варианты, за исключением варианта с бактеризацией штаммом Н1, статистически значимо отличаются от контроля, хотя и не достигают уровня показателей растений, выращенных на среде Кнопа (табл. 4).

Таблица 4

Статистическая значимость (p) различий между вариантами по набору ростовых показателей согласно результатам дискриминантного анализа
Statistical significance (p) of differences between variants in a set of growth indicators according to the results of discriminant analysis

Вариант	Раствор Кнопа	OSV2	Н1	Н2	Н3	Смесь штаммов	Контроль
Раствор Кнопа		< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
OSV2	< 0,001		< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
Н1	< 0,001	< 0,001		< 0,01	< 0,001	< 0,001	Нет
Н2	< 0,001	< 0,001	< 0,01		< 0,05	< 0,001	< 0,001
Н3	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,05		< 0,01	< 0,001
Смесь штаммов	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,01		< 0,001
Контроль	< 0,001	< 0,001	Нет	< 0,001	< 0,001	< 0,001	

Примечание: «Нет» – отсутствие статистически значимых различий.

Набор показателей, по которому, согласно результатам дискриминантного анализа, различаются варианты (см. табл. 4), включает длину и массу растений, длину и массу корня, длину и массу надземной части, однако не включает корнеобеспеченность.

Тест Уилкоксона для связанных выборок (без включения в анализ корнеобеспеченности, которая не прореагировала на дефицит азота (см. табл. 2)) показал, что, несмотря на то, что вариант с бактеризацией штаммом Н1 не отличается статистически значимо от контроля ни по отдельным показателям (согласно результатам двухвыборочных t-тестов), ни по их набору (согласно результатам дискриминантного анализа), тем не менее статистически значимо ($p < 0,05$) отличается от контроля в связи с тем, что превосходит контрольный вариант по всем шести ростовым показателям.

Ранговый дисперсионный анализ Фридмана подтвердил статистическую значимость разли-

чий между всеми вариантами эксперимента по всему набору ростовых показателей (длина и масса растений, длина и масса корня, длина и масса надземной части, но без показателя корнеобеспеченности) на уровне $p < 0,001$. При этом коэффициент конкордации Кендалла оказался довольно высоким (0,738), а при исключении варианта OSV2 – очень высоким (0,935), что близко к его максимальному значению (1,0). Применительно к анализируемым данным этот коэффициент отражает согласованность реакции изучаемых ростовых показателей на разные варианты эксперимента. Другими словами, если при ранжировании вариант занимает первое место по одному из показателей, он будет занимать первое место и по большинству других показателей; если вариант занимает последнее место по одному из показателей, то он будет занимать последнее место и по большинству остальных показателей; то же касается вариантов, занимающих промежуточные места.

Действительно, совпадение либо близость мест, занимаемых вариантами при ранжировании по различным показателям, характерно для всех вариантов, кроме OSV2 (табл. 5). Ранг 1 соот-

ветствует максимальному значению показателя, ранг 7 – минимальному. Порядок следования вариантов в таблице 5 соответствует занимаемым ими местам по совокупности рангов.

Таблица 5

Результаты ранжирования вариантов по различным ростовым показателям числа в ячейках означают место, которое занял вариант по величине соответствующего показателя
Results of ranking variants by various growth indicators; numbers in cells indicate the place that the variant took by the value of the corresponding indicator

Вариант	Длина растения, мм	Масса растения, г	Длина корня, мм	Масса корня, г	Длина надземной части, мм	Масса надземной части, г
Раствор Кнопа	1	1	1	3	1	1
Смесь штаммов	3	2	2	2	3	2
H3	2	4	3	4	2	3
H2	4	5	5	5,5	4	4
OSV2	7	3	6	1	7	5
H1	5	6	4	5,5	5	6
Контроль	6	7	7	7	6	7

Примечание: числа в ячейках означают место, которое занял вариант по величине соответствующего показателя.

Проекция вариантов эксперимента на первые две главные компоненты с сохранением 96,71 % информации и кластерный анализ сходства вариантов по набору указанных пока-

зателей подтверждают, что вариант OSV2 достаточно сильно отличается от остальных вариантов (рис. 5).

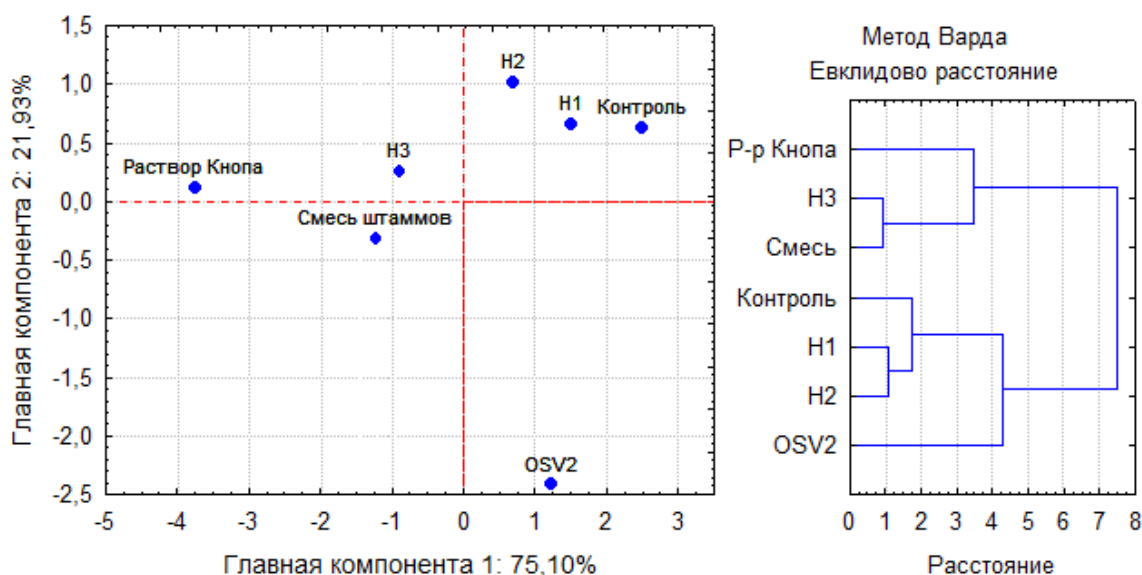


Рис. 5. Проекция вариантов по совокупности ростовых показателей на первые две главные компоненты (слева), каждая точка соответствует среднему для данного варианта; кластеризация вариантов по совокупности тех же показателей (справа)

Projection of variants by the set of growth indicators onto the first two principal components (left), each point corresponds to the average for a given variant; clustering of variants by the set of the same indicators (right)

Одним из свидетельств нормального развития растений является высокая корреляция между развитием корневой системы и надземной части [20]. При этом улучшение азотного питания повышает координацию между развитием подземных и надземных органов растения, что находит отражение в увеличении соответ-

ствующих коэффициентов корреляции [21, 22]. В этой связи нами были рассчитаны коэффициенты корреляции между длиной и массой корней и длиной и массой надземной части растений в разных вариантах эксперимента (табл. 6).

Таблица 6

Коэффициенты корреляции между основными ростовыми показателями в разных вариантах; статистически значимые ($p < 0,05$) коэффициенты корреляции выделены жирным шрифтом
Correlation coefficients between the main growth indicators in different variants; statistically significant ($p < 0.05$) correlation coefficients are highlighted in bold

Показатель	Длина корня	Масса корня	Длина надземной части	Масса надземной части
Раствор Кнопа				
Длина корня	1,000	0,782	0,233	0,630
Масса корня	0,782	1,000	0,361	0,611
Длина надземной части	0,233	0,361	1,000	0,289
Контроль				
Длина корня	1,000	0,341	0,189	0,417
Масса корня	0,341	1,000	0,055	0,024
Длина надземной части	0,189	0,055	1,000	0,408
OSV2				
Длина корня	1,000	0,360	0,493	0,380
Масса корня	0,360	1,000	0,719	0,582
Длина надземной части	0,493	0,719	1,000	0,625
H1				
Длина корня	1,000	0,308	0,187	0,539
Масса корня	0,308	1,000	0,529	0,526
Длина надземной части	0,187	0,529	1,000	0,484
H2				
Длина корня	1,000	0,550	0,287	0,733
Масса корня	0,550	1,000	0,332	0,649
Длина надземной части	0,287	0,332	1,000	0,453
H3				
Длина корня	1,000	0,411	0,392	0,526
Масса корня	0,411	1,000	0,234	0,609
Длина надземной части	0,392	0,234	1,000	0,497
Смесь штаммов				
Длина корня	1,000	0,780	0,415	0,668
Масса корня	0,780	1,000	0,372	0,726
Длина надземной части	0,415	0,372	1,000	0,535

Примечание: статистически значимые ($p < 0,05$) коэффициенты корреляции выделены жирным шрифтом.

Как видно из представленных данных, для варианта с нормальным азотным питанием (раствор Кнопа) характерна высокая и статистически значимая положительная корреляция ($r = 0,611$) между массой надземной части и массой корня.

В то же время дефицит азота (вариант Контроль) привел к фактическому исчезновению корреляции ($r = 0,024$), а бактериализация азотфиксаторами привела к восстановлению корреляционной связи между этими показателями.

Хорошим инструментом для общей оценки тесноты корреляционных связей между набором показателей является анализ корреляционной матрицы методом главных компонент. Чем выше уровень коррелированности изучаемых показателей, тем больше процент дисперсии, приходящейся на 1-ю либо на 1-ю и 2-ю главные компоненты (точнее – на соответствующие этим компонентам собственные значения корреляционной матрицы). При полном отсутствии корреляций между показателями (все коэффициенты корреляции равны 0) процент дисперсии, приходящейся на 1-ю главную компоненту

(а также на все остальные главные компоненты), будет в точности равен $100/N$, где N – число изучаемых показателей. В случае четырех показателей (длина корня, масса корня, длина надземной части, масса надземной части) он составит 25 %. При полной коррелированности показателей (все коэффициенты корреляции равны 1) процент дисперсии, приходящейся на 1-ю главную компоненту, будет равен 100 %, а на остальные главные компоненты – 0 %. На рисунке 6 показаны результаты подобного анализа корреляционных матриц, представленных в таблице 6.

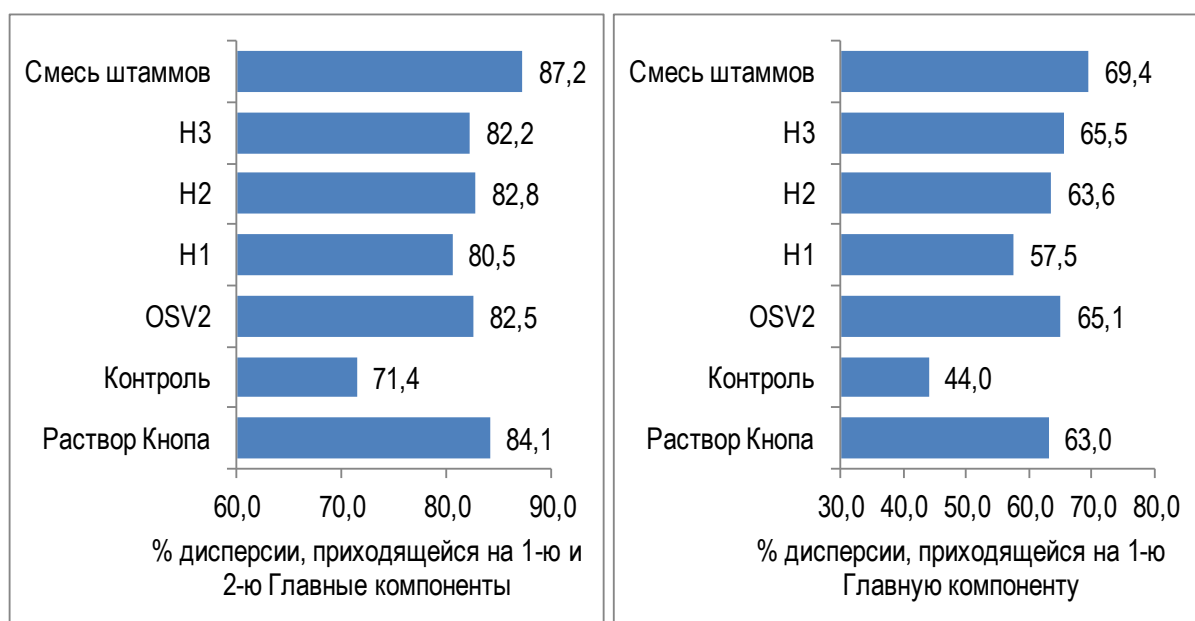


Рис. 6. Доля дисперсии, приходящаяся на 1-ю и 2-ю главную компоненту корреляционных матриц, представленных в таблице 6

The proportion of variance accounted for by the 1st and 2nd principal components of the correlation matrices presented in Table 6

Как видно из представленных на рисунке 6 данных, дефицит азота не только привел к исчезновению корреляции между массой надземной части, но и существенно снизил общую коррелированность между показателями, характеризующими развитие корневой системы и надземной части, что отразилось в низкой доле дисперсии, приходящейся на 1-ю главную компоненту (44,0 % в контроле против 63,0 % в варианте с поливом растений раствором Кнопа). То же касается суммы дисперсий, приходящих на 1-ю и 2-ю главные компоненты (71,4 % в контроле против 84,1 % на растворе Кнопа). В то же время все варианты бактеризации привели к восстановлению степени корреляционных связей между указанными показателями до

уровня, соответствующего варианту с раствором Кнопа, или даже до более высокого уровня.

Влияние бактеризации на содержание пигментов фотосинтетического аппарата в листьях растений салата. Многочисленными исследованиями показано, что дефицит азота ведет к уменьшению содержания пигментов фотосинтетического аппарата в листьях [23, 25]. В этой связи содержание этих пигментов широко используется для диагностики уровня азотного питания растений [26, 27]. В нашем исследовании дефицит азота снизил содержание хлорофилла *a* в листьях салата в пересчете на сырой вес более чем в 10 раз, а в пересчете на сухой вес – более чем в 13 раз; содержание хлорофилла *b* в пересчете на сырой вес – почти

в 47 раз, в пересчете на сухой вес – почти в 61 раз; содержание каротиноидов в пересчете на сырой вес – почти в 6 раз, в пересчете на

сухой вес – более чем в 8 раз. Кроме этого, дефицит азота в 2 раза снизил отношение суммы хлорофиллов *a* и *b* к каротиноидам (табл. 7, 8).

Таблица 7

**Влияние дефицита азота на содержание пигментов фотосинтетического аппарата,
мг/г сырого веса листьев**
**Effect of nitrogen deficiency on the content of pigments of the photosynthetic apparatus,
mg/g fresh weight of leaves**

Показатель	Раствор Кнопа	Контроль	Раствор Кнопа/контроль	Статистическая значимость различий, <i>p</i>
Хлорофилл <i>a</i>	0,621	0,061	10,13	< 0,05
Хлорофилл <i>b</i>	0,165	0,004	46,77	< 0,05
Хлорофиллы (<i>a+b</i>)	0,786	0,065	12,13	< 0,05
Каротиноиды	0,190	0,032	5,93	< 0,05
Хл. (<i>a+b</i>)/каротиноиды	4,133	2,050	2,02	< 0,05

Таблица 8

**Влияние дефицита азота на содержание пигментов фотосинтетического аппарата,
мг/г сухого веса листьев**
**Effect of nitrogen deficiency on the content of pigments of the photosynthetic apparatus,
mg/g dry weight of leaves**

Показатель	Раствор Кнопа	Контроль	Раствор Кнопа/Контроль	Статистическая значимость различий, <i>p</i>
Хлорофилл <i>a</i>	5,501	0,397	13,85	< 0,05
Хлорофилл <i>b</i>	1,463	0,024	60,79	< 0,05
Хлорофиллы (<i>a+b</i>)	6,964	0,421	16,53	< 0,05
Каротиноиды	1,684	0,207	8,13	< 0,05
Хл. (<i>a+b</i>)/каротиноиды	4,133	2,050	2,02	< 0,05

Бактеризация во всех вариантах повысила содержание пигментов в пересчете на сырой вес в 1,4–13,1 раза, а в пересчете на сухой вес –

в 1,2–11,9 раза, а также повысила отношение суммы хлорофиллов *a* и *b* к каротиноидам в 1,1–1,6 раза (см. табл. 9, 10).

Таблица 9

**Влияние бактеризации на содержание пигментов фотосинтетического аппарата,
мг/г сырого веса листьев**
**Effect of bacterization on the content of pigments of the photosynthetic apparatus,
mg/g fresh weight of leaves**

Показатель	OSV2		H1		H2		H3		Смесь штаммов	
Хлорофилл <i>a</i>	0,166**	2,7	0,143*	2,3	0,122*	2,0	0,097	1,6	0,233**	3,8
Хлорофилл <i>b</i>	0,022*	6,2	0,017	4,8	0,015	4,1	0,015	4,1	0,046**	13,1
Хлорофиллы (<i>a+b</i>)	0,188***	2,9	0,160*	2,5	0,136*	2,1	0,112	1,7	0,279**	4,3
Каротиноиды	0,068*	2,1	0,062*	1,9	0,059*	1,8	0,044	1,4	0,086**	2,7
Хл. (<i>a+b</i>)/каротиноиды	2,752	1,3	2,569	1,3	2,320	1,1	2,514	1,2	3,251*	1,6

**Влияние бактеризации на содержание пигментов фотосинтетического аппарата,
мг/г сухого веса листьев**
**Effect of bacterization on the content of pigments of the photosynthetic apparatus,
mg/g dry weight of leaves**

Показатель	OSV2		H1		H2		H3		Смесь штаммов	
Хлорофилл а	1,057	2,7	0,892	2,2	0,667**	1,7	0,553	1,4	1,448**	3,6
Хлорофилл b	0,14	5,8	0,106	4,4	0,08	3,3	0,083	3,5	0,287**	11,9
Хлорофиллы (a+b)	1,197	2,8	0,998	2,4	0,748*	1,8	0,637	1,5	1,735**	4,1
Каротиноиды	0,437	2,1	0,386	1,9	0,322**	1,6	0,251	1,2	0,535**	2,6
Хл. (a+b)/Каротиноиды	2,752	1,3	2,569	1,3	2,320	1,1	2,514	1,2	3,251*	1,6

Хотя с помощью двухвыборочного t-теста статистическая значимость повышения содержания пигментов фотосинтетического аппарата доказана не во всех вариантах, дискриминантный анализ показал, что по совокупности со-

держания хлорофиллов а, b и каротиноидов в пересчете на сырой вес все варианты с бактеризацией статистически значимо превосходят контроль (табл. 11).

Таблица 11

**Статистическая значимость (p) различий между вариантами по набору совокупности
содержания хлорофиллов а, b и каротиноидов в пересчете на сырой вес
согласно результатам дискриминантного анализа**
**Statistical significance (p) of differences between variants in terms of the total content
of chlorophylls a, b and carotenoids in terms of raw weight according to the results
of discriminant analysis**

Вариант	OSV2	H2	H3	Смесь штаммов	H1	Контроль
OSV2		Нет	Нет	< 0,01	Нет	< 0,05
H2	Нет		Нет	< 0,01	Нет	< 0,05
H3	Нет	Нет		< 0,01	Нет	0,05
Смесь штаммов	< 0,01	< 0,01	< 0,01		< 0,01	< 0,001
H1	Нет	Нет	Нет	< 0,01		< 0,05
Контроль	< 0,05	< 0,05	0,05	< 0,001	< 0,05	

Примечание: «Нет» означает отсутствие статистически значимых различий.

Парный двухвыборочный тест Уилкоксона показал, что все варианты с бактеризацией статистически значимо ($p < 0,05$) превосходят контроль по набору показателей, представленных в таблицах 9 и 10, как при расчете содержания пигментов на сырой вес, так и при расчете на сухой вес.

Ранги, занимаемые вариантами эксперимента по разным показателям содержания пигментов фотосинтетического аппарата, практически совпадают, о чем говорит высокий коэффициент конкордации (0,983 при расчете содержания

пигментов как на сырой, так и на сухой вес). Результаты ранжирования вариантов по показателям содержания пигментов представлены в таблице 12. Ранг 1 соответствует максимальному значению показателя, ранг 7 – минимальному. Порядок следования вариантов в таблице 12 соответствует занимаемым ими местам по совокупности рангов. Представлены результаты ранжирования по содержанию пигментов на сырой вес; ранжирование по содержанию пигментов в пересчете на сухой вес дает такие же результаты.

**Результаты ранжирования вариантов по показателям содержания пигментов
фотосинтетического аппарата**
Results of ranking variants by the content of photosynthetic apparatus pigments

Вариант	Хлорофилл а	Хлорофилл b	Хлорофиллы (a+b)	Каротиноиды	Хл. (a+b)/ каротиноиды
Раствор Кнопа	1	1	1	1	1
Смесь штаммов	2	2	2	2	2
OSV2	3	3	3	3	3
H1	4	4	4	4	4
H2	5	6	5	5	6
H3	6	5	6	6	5
Контроль	7	7	7	7	7

Примечания: числа в ячейках означают место, которое занял вариант по величине соответствующего показателя.

Следует отметить, что результаты ранжирования вариантов с бактериризацией по положительному воздействию на ростовые параметры растений не совпадают с ранжированием по воздействию на показатели содержания пигментов фотосинтетического аппарата. Об этом свидетельствует крайне низкая величина коэффициента ранговой корреляции Спирмена (0,1) между суммами рангов бактеризованных вариантов по ростовым параметрам (см. табл. 5) и по содержанию пигментов (см. табл. 12). Единственным совпадением является тот факт, что вариант смесь штаммов в обоих случаях занял первое место среди остальных вариантов по положительному эффекту. Это может говорить о разных механизмах воздействия изучаемых штаммов на рост растений и накопление фотосинтетических пигментов.

Дефицит азота вполне закономерно привел к резкому падению содержания этого элемента в растениях. Так, если в варианте с поливом раствором Кнопа содержание азота по Кьельдалю составило 40,6 мг/г сухого вещества, содержание нитратного азота – 7,3 мг/г сухого вещества, содержание общего азота – 47,9 мг/г сухого ве-

щества, то в контрольном варианте эти показатели были равны соответственно 11,6; 0,1 и 11,6 мг/г сухого вещества. Бактеризация во всех вариантах повысила содержание азота по Кьельдалю и общего азота, а в варианте с бактериризацией штаммом OSV2 – и содержание нитратного азота. Однако во всех вариантах растения по содержанию азота очень сильно отставали от варианта с поливом раствором Кнопа. Максимальная прибавка содержания азота по Кьельдалю и общего азота наблюдалась при бактеризации штаммом H2 (в 1,3 раза относительно контроля), максимальная прибавка нитратного азота – в варианте с бактериризацией штаммом OSV2 (в 10 раз относительно контроля) (рис. 7).

В вариантах с бактериризацией не выявлено статистически значимой связи содержания азота в растениях ни с ростовыми показателями, ни с показателями содержания пигментов фотосинтетического аппарата в листьях; соответствующие коэффициенты корреляции Пирсона и коэффициенты ранговой корреляции Спирмена оказались статистически незначимыми.

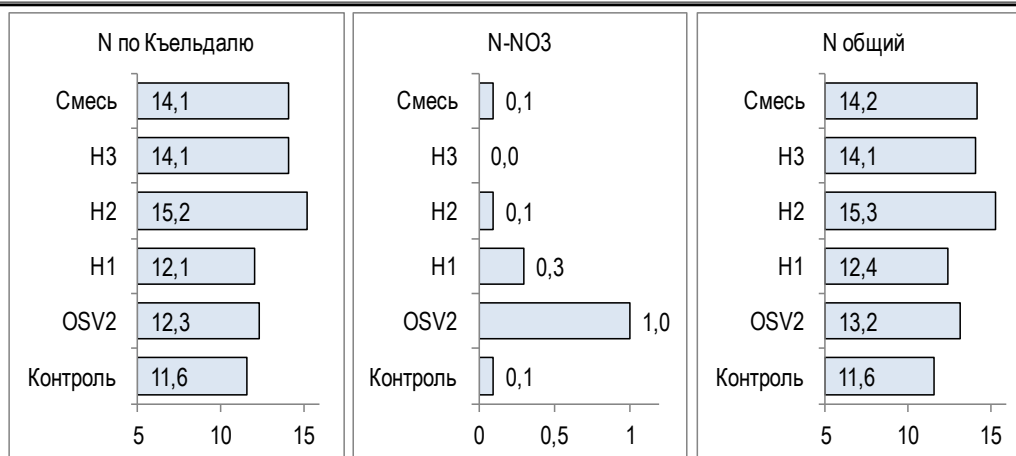


Рис. 7. Влияние бактеризации на содержание азота в растениях салата, мг/г сухого вещества
Effect of bacterization on nitrogen content in lettuce plants, mg/g dry matter

Таблица 13

Содержание минеральных элементов в растениях в разных вариантах эксперимента,
% от сухой массы
Content of mineral elements in plants in different experimental variants, % of dry mass

Вариант	Ca	K	Mg	P	S
Раствор Кнопа	2,52	6,79	0,84	0,05	0,64
Контроль	2,51	4,29	0,87	0,13	0,94
OSV	1,91	4,94	0,69	0,04	0,82
Н1	2,4	5,12	0,67	0,02	0,71
Н2	2,32	6,25	0,74	0,11	0,76
Н3	2,47	6,03	0,74	0,06	0,57
Смесь штаммов	2,1	4,57	0,57	0,02	0,52

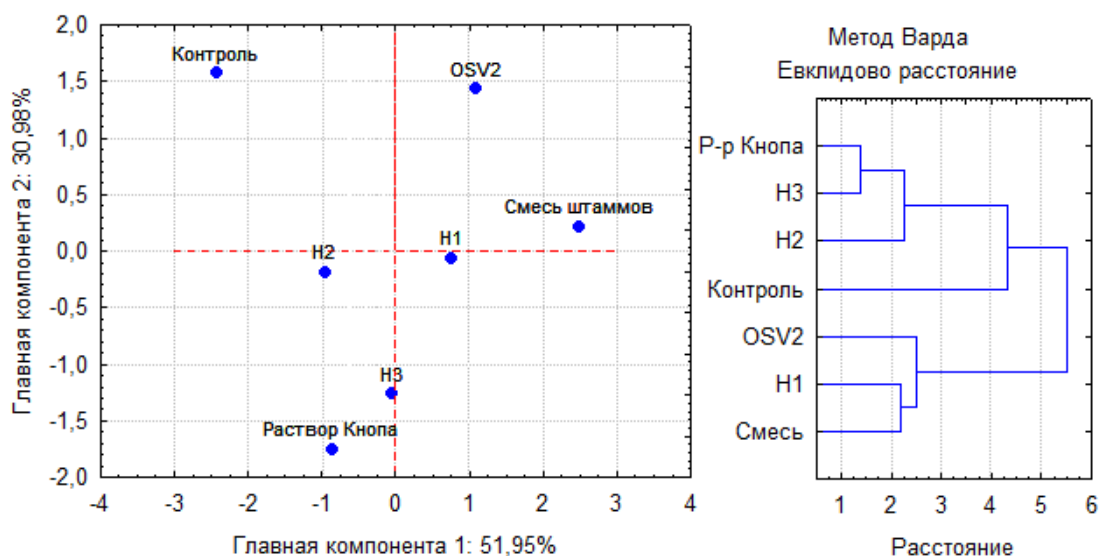


Рис. 8. Проекция вариантов по совокупности содержания минеральных элементов на первые две главные компоненты (слева), каждая точка соответствует среднему для данного варианта; кластеризация вариантов по совокупности тех же элементов (справа)
Projection of variants by the total content of mineral elements onto the first two principal components (left), each point corresponds to the average for a given variant; clustering of variants by the total content of the same elements (right)

Каких-либо явных закономерностей в различиях минерального состава в зависимости от варианта эксперимента не выявлено, что подтверждается проекцией на главные компоненты и результатами кластерного анализа.

Заключение. Наши исследования показали, что бактериализация штаммами несимбиотических азотфиксирующих бактерий, выделенными из ППС, статистически значимо увеличила ростовые показатели растений салата, находящихся в условиях дефицита азота. В целом по совокупности ростовых показателей наибольшую прибавку обеспечил штамм *A. chroococcum* H3, благодаря которому средние значения массы и длины корневой системы выросли соответственно в 2,14 и 1,1 раза, массы и длины надземной части – в 1,5 и 1,31 раза, а массы и длины всего растения – в 1,68 и 1,19 раза относительно небактеризованного контроля. В плане улучшения изученных ростовых показателей, за исключением массы корня, бактериализация данным штаммом превзошла по эффективности бактериализацию почвенным азотфиксирующим штаммом *A. macrocytogenes* OSV2 (который повысил среднюю массу корня в 3,65 раза относительно контроля). Бактериализация всеми азотфиксирующими штаммами также статистически значимо повысила содержание пигментов фотосинтетического аппарата (в 1,4–13,1 раза относительно контроля в пересчете на сырой вес листьев и в 1,2–11,9 раза в пересчете на сухой вес листьев), а также повысила отношение суммы хлорофиллов *a* и *b* к каротиноидам в 1,1–1,6 раза. Однако в данном случае по эффективности лидировал штамм OSV2. Кроме этого, бактериализация всеми изученными штаммами повысила содержание азота в растениях. При этом лидером по эффективности оказался штамм H2, бактериализация которым обеспечила прибавку содержания азота по Кьельдалю и общего азота в 1,31, а нитратного азота – в 1,36 раза относительно контроля. Таким образом, можно констатировать, что микробное сообщество ППС является перспективным источником несимбиотических азотфиксирующих штаммов для использования в биопрепаратах, предназначенных для улучшения азотного питания растений.

Наибольший эффект в плане стимулирования роста растений и повышения содержания

пигментов фотосинтетического аппарата обеспечила бактериализация смесью штаммов *A. chroococcum* H1, *A. chroococcum* H2, *A. chroococcum* H3 и *A. macrocytogenes* OSV2, что позволяет говорить о наличии синергизма в их воздействии на растение.

Несмотря на то что в условиях дефицита азота все штаммы, а также их комбинация, обеспечили статистически значимое повышение ростовых показателей, содержания фотосинтетических пигментов и содержания азота в растениях, растения в бактеризованных вариантах практически по всем показателям уступили растениям, выращенным на растворе Кнопа. Исключение составил вариант с бактериализацией смесью штаммов, который обеспечил среднюю длину и массу корня на том же уровне, что и раствор Кнопа, и вариант с бактериализацией штаммом *A. chroococcum* H3, обеспечивший среднюю длину корня на уровне варианта с раствором Кнопа. Таким образом, предпосевная бактериализация семян изучаемыми азотфиксирующими штаммами не обеспечила полной нормализации азотного питания. Это можно объяснить низкой численностью данных штаммов в ризосфере, которая у 28-суточных растений составила порядка 10^2 КОЕ/на одно растение. В этой связи при использовании данных штаммов для улучшения азотного питания растений предлагается после первоначальной бактериализации семян проводить повторную бактериализацию проростков.

Интерес представляет тот факт, что в контрольном варианте растения продемонстрировали способность к росту, формированию фотосинтетического аппарата и накоплению азота в тканях, несмотря на отсутствие этого элемента в поливочном растворе. Мы полагаем, что это связано с развитием в ризосфере этих растений эндофитных азотфиксирующих бактерий, присутствовавших внутри семян и частично восполнивших дефицит азота в этом варианте эксперимента. В дальнейшем предполагается более детальное изучение данных бактерий с точки зрения потенциальной возможности их использования в качестве микробиологического азотного удобрения.

1. Pandey R., Bahadur B., Venkat Rajam M., et al. Mineral Nutrition of Plants // Plant Biology and Biotechnology. Springer, New Delhi. 2015. Vol. 1. P. 499–538. DOI: 10.1007/978-81-322-2286-6_20.
2. Houlton B.Z., Almaraz M., Aneja V., et al. A world of cobenefits: solving the global nitrogen challenge // Earth's future. 2019. Vol. 7, № 8. P. 865–872. DOI: 10.1029/2019EF001222.
3. Bhattacharjee R.B., Singh A., Mukhopadhyay S.N., et al. Use of nitrogen-fixing bacteria as biofertiliser for non-legumes: prospects and challenges // Appl Microbiol Biotechnol. 2008. Vol. 80. P. 199–209. DOI: 10.1007/s00253-008-1567-2. EDN: YANAFR.
4. Khan M.S., Koizumi N., Olds J.L. Biofixation of atmospheric nitrogen in the context of world staple crop production: Policy perspectives // Science of The Total Environment. 2020. Vol. 701. P. 134945. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.134945. EDN: NGLGUE.
5. Ullah R., Junaid M., Kanwal M., et al. Status of research and applications of bio-fertilizers: Global scenario // Biofertilizers for sustainable soil management. CRC Press. 2023. P. 225–247.
6. Sun X., Xu Z., Zhang N. et al. Biofertilizer Industry and Research Developments in China: A Mini-Review // Microbial Biotechnology. 2025. Vol. 18, № 5. P. e70163. DOI: 10.1111/1751-7915.70163.
7. Soumare A., Diedhiou A.G., Thuita M., et al. Exploiting biological nitrogen fixation: a route towards a sustainable agriculture // Plants. 2020. Vol. 9, № 8. P. 1011. DOI: 10.3390/plants9081011. EDN: LFPPAR.
8. Daniel A.I., Fadaka A.O., Gokul A., et al. Biofertilizer: the future of food security and food safety // Microorganisms. 2022. Vol. 10, № 6. P. 1220. DOI: 10.3390/microorganisms10061220. EDN: ZEXKFE.
9. Chaudhary P., Singh S., Chaudhary A., et al. Overview of biofertilizers in crop production and stress management for sustainable agriculture // Frontiers in Plant Science. 2022. Vol. 13. P. 930340. DOI: 10.3389/fpls.2022.930340. EDN: APRQWM.
10. Bastakoti B., Khanal D., Banjade D. Azotobacter: An Option For Nitrogen Fertilizer Substitution: A Detailed Review // Journal of Wastes and Biomass Management (JWBM). 2024. Vol. 6, № 1. P. 01–04. DOI: 10.26480/jwbm.01.2024.11.14. EDN: IETSGI.
11. Majeed A., Muhammad Z., Ullah Z., et al. Cyanobacterial application as bio-fertilizers in rice fields: role in growth promotion and crop productivity // PSM microbiology. 2017. Vol. 2, № 2, P. 47–50.
12. Zhang Y., Ding S., Xue X., et al. Combined application of nitrogen-fixing cyanobacteria enhances rice growth and nutritional quality in saline environments // Algal Research. 2025. P. 104061. DOI: 10.1016/j.algal.2025.104061.
13. Manukovsky N.S., Kovalev V.S., Rygalov V.Y., et al. Waste bioregeneration in life support CES: development of soil organic substrate // Advances in Space Research. 1997. Vol. 20. P. 1827–1832. DOI: 10.1016/S0273-1177(97)00848-X. EDN: LEEWXF.
14. Felker P., Clark P.R., Laag A.E., et al. Salinity tolerance of the tree legumes: mesquite (*Prosopis glandulosa* var. *torreyana*, *P. velutina* and *P. articulata*) algarrobo (*P. chilensis*), kiawe (*P. pallida*) and tamarugo (*P. tamarugo*) grown in sand culture on nitrogen-free media // Plant and soil. 1981. Vol. 61. P. 311–317. DOI: 10.1007/bf02182012. EDN: FKHOIL.
15. Гавриленко В.Ф., Жигалова Т.В. Большой практикум по фотосинтезу. М.: Академия; 2003. С. 51–54.
16. Иванова Е.А., Анищенко О.В., Зуев И.В., и др. Содержание металлов в *Phragmites australis* Trin. ex Steud и *Potamogeton pectinatus* L. из водоемов разной минерализации // Журнал Сибирского федерального университета. Серия Биология. 2015. Т. 3, № 8. С. 347–361. DOI: 10.17516/1997-1389-2015-8-3-347-361. EDN: VDUUEV.
17. Ушакова С.А., Шихов В.Н., Шклавцова Е.С. и др. Влияние интенсивности света на ценозы пшеницы, культивируемые на растворах с использованием жидких продуктов минерализации экзо-метаболических человека для условий замкнутых экосистем // Авиакосмическая и экологическая медицина. 2021. Т. 55, № 5. С. 76–84 DOI: 10.21687/0233-528X-2021-55-5-76-84. EDN: NDXNIL.

18. Afzal I., Shinwari Z.K., Sikandar S., et al. Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants // *Microbiological research*. 2019. Vol. 221. P. 36–49. DOI: 10.1016/j.micres.2019.02.001. EDN: ZXSLQN.
19. Puri A., Padda K.P., Chanway C.P., et al. Nitrogen-fixation by endophytic bacteria in agricultural crops: recent advances // *Nitrogen in agriculture*. IntechOpen, London, GBR. 2018. P. 73–94. DOI: 10.5772/intechopen.71988.
20. Gersani M., Sachs T. Development correlations between roots in heterogeneous environments // *Plant, Cell & Environment*. 1992. Vol. 15, № 4. P. 463–469. DOI: 10.1111/j.1365-3040.1992.tb00997.x.
21. Chen J., Liu L., Wang Z., et al. Nitrogen fertilization increases root growth and coordinates the root–shoot relationship in cotton // *Frontiers in Plant Science*. 2020. Vol. 11. P. 880. DOI: 10.3389/fpls.2020.00880. EDN: EMAIAU.
22. Wang L., Liu S., Lu S., et al. Irrigation and nitrogen fertilizer increase wheat productivity by improving root–shoot population coordination // *Agricultural Water Management*. 2025. Vol. 316. P. 109589. DOI: 10.1016/j.agwat.2025.109589.
23. Mu X., Chen Y. The physiological response of photosynthesis to nitrogen deficiency // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2021. Vol. 158. P. 76–82. DOI: 10.1016/j.plaphy.2020.11.019. EDN: GCOOTL.
24. Fathi A. Role of nitrogen (N) in plant growth, photosynthesis pigments, and N use efficiency: A // *Agrisost*. 2022. Vol. 28. P. 1–8.
25. Valenzuela H. Optimizing the nitrogen use efficiency in vegetable crops // *Nitrogen*. 2024. Vol. 5, № 1. P. 106–143. DOI: 10.3390/nitrogen5010008. EDN: NSBQLS.
26. Zhang J., Blackmer A.M., Ellsworth J.W., et al. Sensitivity of chlorophyll meters for diagnosing nitrogen deficiencies of corn in production agriculture // *Agronomy Journal*. 2008. Vol. 100, № 3. P. 543–550. DOI: 10.2134/agronj2006.0153.
27. Chowdhury M., Kumar Khura T., Ahmad Parray R. et al. The use of destructive and nondestructive techniques in concrete nitrogen assessment in plants // *Journal of Plant Nutrition*. 2024. Vol. 47, № 14, P. 2271–2294. DOI: 10.1080/01904167.2024.2342353.

References

1. Pandey R, Bahadur B, Venkat Rajam M, et al. Mineral Nutrition of Plants. *Plant Biology and Biotechnology*. Springer, New Delhi. 2015;1:499-538. DOI: 10.1007/978-81-322-2286-6_20.
2. Houlton BZ, Almaraz M, Aneja V, et al. A world of cobenefits: solving the global nitrogen challenge. *Earth's future*. 2019;7(8):865-872. DOI: 10.1029/2019EF001222.
3. Bhattacharjee RB, Singh A, Mukhopadhyay SN, et al. Use of nitrogen-fixing bacteria as biofertiliser for non-legumes: prospects and challenges. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2008;80:199-209. DOI: 10.1007/s00253-008-1567-2. EDN: YANAFR.
4. Khan MS, Koizumi N, Olds JL. Biofixation of atmospheric nitrogen in the context of world staple crop production: Policy perspectives. *Science of The Total Environment*. 2020;701:134945. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.134945. EDN: NGLGUE.
5. Ullah R, Junaid M, Kanwal M, et al. Status of research and applications of bio-fertilizers: Global scenario. *Biofertilizers for sustainable soil management*. CRC Press. 2023;225-247.
6. Sun X, Xu Z, Zhang N, et al. Biofertilizer Industry and Research Developments in China: A Mini-Review. *Microbial Biotechnology*. 2025;18(5):e70163. DOI: 10.1111/1751-7915.70163.
7. Soumare A, Diedhiou AG, Thuita M, et al. Exploiting biological nitrogen fixation: a route towards a sustainable agriculture. *Plants*. 2020;9(8):1011. DOI: 10.3390/plants9081011. EDN: LFPPAR.
8. Daniel AI, Fadaka AO, Gokul A, et al. Biofertilizer: the future of food security and food safety. *Microorganisms*. 2022;10(6):1220. DOI: 10.3390/microorganisms10061220. EDN: ZEXKFE.
9. Chaudhary P, Singh S, Chaudhary A, et al. Overview of biofertilizers in crop production and stress management for sustainable agriculture. *Frontiers in Plant Science*. 2022;13:930340. DOI: 10.3389/fpls.2022.930340. EDN: APRQWM.

10. Bastakoti B, Khanal D, Banjade D. Azotobacter: An Option For Nitrogen Fertilizer Substitution: A Detailed Review. *Journal of Wastes and Biomass Management (JWBM)*. 2024;6(1):01-04. DOI: 10.26480/jwbm.01.2024.11.14. EDN: IETSGI.
11. Majeed A, Muhammad Z, Ullah Z, et al. Cyanobacterial application as bio-fertilizers in rice fields: role in growth promotion and crop productivity. *PSM microbiology*. 2017;2(2):47-50.
12. Zhang Y, Ding S, Xue X, et al. Combined application of nitrogen-fixing cyanobacteria enhances rice growth and nutritional quality in saline environments. *Algal Research*. 2025;104061. DOI: 10.1016/j.algal.2025.104061.
13. Manukovsky NS, Kovalev VS, Rygalov VY, et al. Waste bioregeneration in life support CES: development of soil organic substrate. *Advances in Space Research*. 1997;20:1827-1832. DOI: 10.1016/S0273-1177(97)00848-X. EDN: LEEWXF.
14. Felker P, Clark PR, Laag AE, et al. Salinity tolerance of the tree legumes: mesquite (*Prosopis glandulosa* var. *torreyana*, *P. velutina* and *P. articulata*) algarrobo (*P. chilensis*), kiawe (*P. pallida*) and tamarugo (*P. tamarugo*) grown in sand culture on nitrogen-free media. *Plant and soil*. 1981;61:311-317. DOI: 10.1007/bf02182012. EDN: FKHOIL.
15. Gavrilenko VF, Zhigalova TV. *A large workshop on photosynthesis*. Moscow: Akademiya; 2003. P. 51–54. (In Russ.).
16. Ivanova EA, Anishchenko OV, Zuev IV, et al. Content of Metals in *Phragmites australis* Trin. ex Steud and *Potamogeton pectinatus* L. from Water Bodies of Different Salinity. *Journal of Siberian Federal University. Biology*. 2015;3(8):347-361. (In Russ.). DOI: 10.17516/1997-1389-2015-8-3-347-361. EDN: VDUUEV.
17. Ushakova SA, Shikhov VN, Shklavtsova ES. Effect of light intensity on cenosis of wheat cultivated on solutions with the use of liquid products of human exometabolites mineralization in context of closed eco-systems. *Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina*. 2021;55(5):76-84. (In Russ.). DOI: 10.21687/0233-528X-2021-55-5-76-84. EDN: NDXNIL.
18. Afzal I, Shinwari ZK, Sikandar S, et al. Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. *Microbiological research*. 2019;221:36-49. DOI: 10.1016/j.micres.2019.02.001. EDN: ZXSLQN.
19. Puri A, Padda KP, Chanway CP, et al. Nitrogen-fixation by endophytic bacteria in agricultural crops: recent advances. *Nitrogen in agriculture*. IntechOpen, London, GBR. 2018:73-94. DOI: 10.5772/intechopen.71988.
20. Gersani M, Sachs T. Development correlations between roots in heterogeneous environments. *Plant, Cell & Environment*. 1992;15(4):463-469. DOI: 10.1111/j.1365-3040.1992.tb00997.x.
21. Chen J, Liu L, Wang Z, et al. Nitrogen fertilization increases root growth and coordinates the root-shoot relationship in cotton. *Frontiers in Plant Science*. 2020;11:880. DOI: 10.3389/fpls.2020.00880. EDN: EMAIAU.
22. Wang L, Liu S, Lu S, et al. Irrigation and nitrogen fertilizer increase wheat productivity by improving root-shoot population coordination. *Agricultural Water Management*. 2025;316:109589. DOI: 10.1016/j.agwat.2025.109589.
23. Mu X, Chen Y. The physiological response of photosynthesis to nitrogen deficiency. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2021;158:76-82. DOI: 10.1016/j.plaphy.2020.11.019. EDN: GCOOTL.
24. Fathi A. Role of nitrogen (N) in plant growth, photosynthesis pigments, and N use efficiency: A. *Agrisost*. 2022;28:1-8.
25. Valenzuela H. Optimizing the nitrogen use efficiency in vegetable crops. *Nitrogen*. 2024;5(1):106-143. DOI: 10.3390/nitrogen5010008. EDN: NSBQLS.
26. Zhang J, Blackmer AM, Ellsworth JW, et al. Sensitivity of chlorophyll meters for diagnosing nitrogen deficiencies of corn in production agriculture. *Agronomy Journal*. 2008;100(3):543-550. DOI: 10.2134/agronj2006.0153.
27. Chowdhury M, Kumar Khura T, Ahmad Parray R, et al. The use of destructive and nondestructive techniques in concrete nitrogen assessment in plants. *Journal of Plant Nutrition*. 2024;47(14):2271-2294. DOI: 10.1080/01904167.2024.2342353.

Статья принята к публикации 01.07.2025 / The article accepted for publication 01.07.2025.

Информация об авторах:

Полина Александровна Аболенцева¹, научный сотрудник Межкафедральной научно-инновационной лаборатории сельскохозяйственной и экологической биотехнологии

Софья Владимировна Овсянкина², заведующая Межкафедральной научно-инновационной лабораторией сельскохозяйственной и экологической биотехнологии, кандидат биологических наук

Владимир Владимирович Величко³, старший научный сотрудник лаборатории управления биосинтезом фототрофов, кандидат биологических наук

Наталья Александровна Тихомирова⁴, старший научный сотрудник лаборатории управления биосинтезом фототрофов, кандидат биологических наук

Information about the authors:

Polina Aleksandrovna Abolentseva¹, Researcher at the Interdepartmental Scientific and Innovative Laboratory of Agricultural and Environmental Biotechnology

Sofia Vladimirovna Ovsyankina², Head of the Interdepartmental Scientific and Innovative Laboratory of Agricultural and Environmental Biotechnology, Candidate of Biological Sciences

Vladimir Vladimirovich Velichko³, Senior Researcher, Laboratory of Phototroph Biosynthesis Control, Candidate of Biological Sciences

Natalia Aleksandrovna Tikhomirova⁴, Senior Researcher, Laboratory of Phototroph Biosynthesis Control, Candidate of Biological Sciences

