

## Тестирование клубеньковых бактерий для природно и техногенно засоленных почв и грунтов

Л. Н. Скипин<sup>1</sup>, Е. В. Гаева<sup>1</sup>✉, С. С. Тарасова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Тюменский индустриальный университет, Тюмень, Россия

✉ E-mail: gaevajaev@tyuiu.ru

**Аннотация.** Площадь природных засоленных земель в России составляет примерно 30 млн га. В настоящее время прирост техногенно засоленных территорий сопряжен с добычей полезных ископаемых (агроруд) и образованием буровых амбаров при бурении скважин с целью разведки и добычи углеводородного сырья. Количество буровых амбаров с повышенным содержанием солей в Ханты-Мансийском автономном округе составляет около 3 000, примерно столько же их насчитывается в Ямало-Ненецком автономном округе, по югу Тюменской области их количество возрастает в Уватском районе. Рекультивация данных территорий включает технический и биологический этапы рекультивации. Биологический этап сопряжен с использованием культур-фитомелиорантов. Включение бобового компонента в состав фитомелиорантов предполагает совместное его использование с препаратом активного штамма клубеньковых бактерий. **Цель исследований** – выявить наиболее солеустойчивый штамм клубеньковых бактерий люпина, донника и люцерны при разных химизмах и степени засоления среды. **Методология и методы исследования.** Для тестирования клубеньковых бактерий бобовых культур на солеустойчивость и химизм засоления закладывались лабораторные опыты в чашках Петри. Клубеньковые бактерии штаммов люпина 363а, 367а, 375а брались непосредственно из препаратов ризоторфина, степень разведения доводилась до одинакового титра. Клубеньковые бактерии для донника были представлены штаммами 282, 292 (хл) и 291, для люцерны соответственно 451б, 404б, 412б, 423б, 408б и 425а. **Результаты.** Представленные результаты опытов показали, что колонии клубеньковых бактерий люпина, донника и люцерны крайне отрицательно реагируют на концентрацию солей в питательной среде 0,3 % и выше. Это характерно как для нейтрального, так и для содового засоления. Из трех изучаемых штаммов клубеньковых бактерий наиболее солеустойчивым был образец 367а. Из представленных штаммов донника и люцерны наибольшей солеустойчивостью обладали, соответственно, штаммы 282 и 423б. **Научная новизна.** Впервые протестированы штаммы клубеньковых бактерий люпина, донника и люцерны на солеустойчивость по отношению к разному химизму и степени засоления тождественных техногенным грунтам и засоленным почвам.

**Ключевые слова:** клубеньковые бактерии, колонии, химизм и степень засоления, осмотическое давление, штаммы, pH среды.

**Для цитирования:** Скипин Л. Н., Гаева Е. В., Тарасова С. С. Тестирование клубеньковых бактерий для природно и техногенно засоленных почв и грунтов // Аграрный вестник Урала. 2020. Специальный выпуск «Биология и биотехнологии». С. 81–90. DOI: ...

**Дата поступления статьи:** 08.12.2020.

### Постановка проблемы (Introduction)

Рекультивация природно и техногенно засоленных территорий на биологическом этапе может быть обеспечена за счет правильного подбора культур-фитомелиорантов. Применительно к солонцовым почвам наибольший интерес в этом плане среди бобового компонента представляют донник и люцерна. В условиях таежно-лесной зоны определенный интерес применительно к участкам буровых амбаров вызывает бобовый компонент, представленный люпином. Восстановление таких ограниченно нарушенных территорий сдерживается дефицитом азота, его производство и доставка в северные регионы Тюменской области сопряжены с большими финансовыми и материальными затратами [1, с. 53], [9, с. 70].

Использование биологического азота при рекультивации почв и техногенно засоленных грунтов способствует снижению энергозатрат, экономии материальных ресурсов,

уменьшает загрязнение окружающей среды еще на стадии производства азотных удобрений [3, с. 490], [7, с. 62].

Для условий Западной Сибири применение бобового компонента в период рекультивационных работ актуально и своевременно, так как из всех элементов питания для растений азот находится в первом минимуме. Применительно к засоленным почвам и грунтам это проявляется еще сильнее [13, с. 45], [14, с. 55].

К настоящему времени на буровых шламах жизнедеятельность клубеньковых бактерий остается весьма мало изученной. При этом увеличение количества буровых амбаров требует необходимости их своевременной рекультивации с максимальным использованием бобового компонента [15, с. 52]. В данной связи большого внимания заслуживает вопрос изучения факторов, определяющих жизнедеятельность клубеньковых бактерий в условиях засоления. Установлено, что при благоприятных факторах

симбиоза бобовые культуры способны накапливать за летний период до 200 кг/га азота [10, с. 201].

Одним из важнейших условий продуктивности симбиоза является подбор наиболее активных штаммов клубеньковых бактерий для препаратов. Штаммы должны обладать способностями, позволяющими им занять доминирующее положение в ризосфере бобовых растений. Важно, чтобы они были устойчивы к неблагоприятным факторам среды: повышенной кислотности или засоленности, резким колебаниям температуры и др. [4, с. 8], [5, с. 372], [6, с. 38].

Цель настоящего исследования – выявить наиболее солеустойчивый штамм клубеньковых бактерий люпина, донника и люцерны при разных химизмах и степени засоления среды.

#### Методология и методы исследования (Methods)

Для тестирования клубеньковых бактерий люпина на солеустойчивость и химизм засоления закладывались лабораторные опыты в чашках Петри. Клубеньковые бактерии для донника были представлены штаммами 282, 292 (ХЛ) и 291, для люцерны соответственно 4516, 4046, 4126, 4236, 4086 и 425а. Посев их проводился с одинаковым титром. Клубеньковые бактерии штаммов люпина 363а, 367а, 375а брались непосредственно из препаратов ризоторфина, степень разведения доводилась до одинакового титра. Бобовый агар был представлен из 50 г гороха, 1 л водопроводной воды, 10 г сахарозы, 0,5 г  $K_2PO_4$ , 20 г агара и количества соли, соответствующего изучаемому варианту. Соли представлены  $MgSO_4$ ,  $Na_2SO_4$ ,  $NaCl$ ,  $NaHCO_3$ ,  $Na_2CO_3$  и смешанным засолением, тождественным почвенному. Опыты проводились в трехкратной повторности, при появлении колоний после посева проводился их подсчет и описание культуральных признаков. Методика проведения лабораторных опытов изложена Г. И. Ежовым [2, с. 20].

#### Результаты (Results)

От водорастворимых солей во многом зависит активность фиксации азота на засоленных средах. Соли могут оказывать прямое воздействие на клубеньковые бактерии в силу повышения осмоса раствора, pH среды и токсичности ряда ионов, в почвенных условиях это дополнительно усиливается за счет ухудшения водно-физических свойств. По данным ученых, концентрация солей свыше 1 % значительно подавляет, а свыше 4 % – препятствует развитию микроорганизмов. Некоторые из них устойчиво функционируют и при более высокой концентрации солей. При этом не указывается характер засоления и не конкретизируется группа бактерий [18, с. 960], [19, с. 35].

Закладка в лабораторных опытах была нацелена на исследование прямого действия степени, типа засоления и, как следствие, величины осмоса и pH среды на численность колоний разных штаммов люпина. Для закладки лабораторных опытов клубеньковые бактерии люпина брались из ризоторфина, представленного штаммами 363а, 367а, 375а. В проводимых опытах легкорастворимые соли с заданной концентрацией  $MgSO_4$ ,  $Na_2SO_4$ ,  $NaCl$  имеют pH 6,3–6,8, осмотическое давление от 3,0 до 14,0 атм,  $NaHCO_3$ ,  $Na_2CO_3$  – pH от 9,0 до 10,6, осмотическое давление от 3,0 до 7,1 атм, сульфатно-хлоридное засоление – pH от 6,6–9,0, осмотическое давление от 1,3 до 9,4 атм [11, с. 1311] [12, с. 760].

Исследования показали, что степень засоления питательной смеси легкорастворимыми солями во многом определяет жизнедеятельность клубеньковых бактерий люпина [8, с. 430]. Доведение концентрации бобового агара до 0,3 % нейтрального засоления уже снижало численность колоний клубеньковых бактерий с 80 на контроле до 3–47 штук (рис. 1–4).

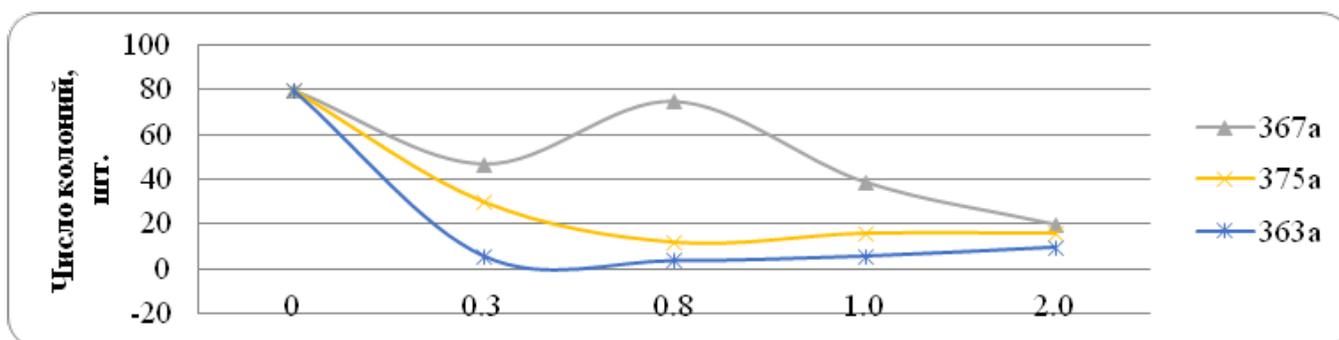


Рис. 1. Оценка устойчивости штаммов клубеньковых бактерий люпина к засолению  $MgSO_4$ , %

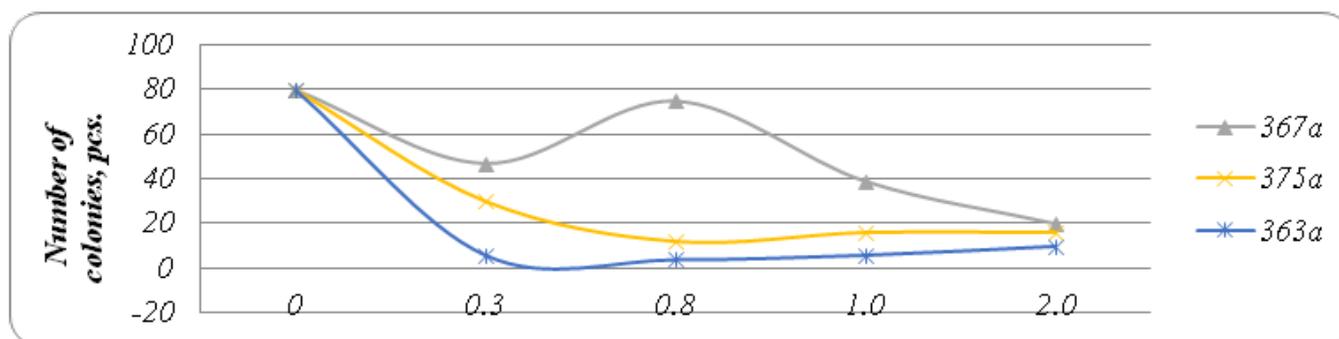


Fig. 1. Evaluation of the resistance of lupine nodule bacteria strains to salinity  $MgSO_4$ , %

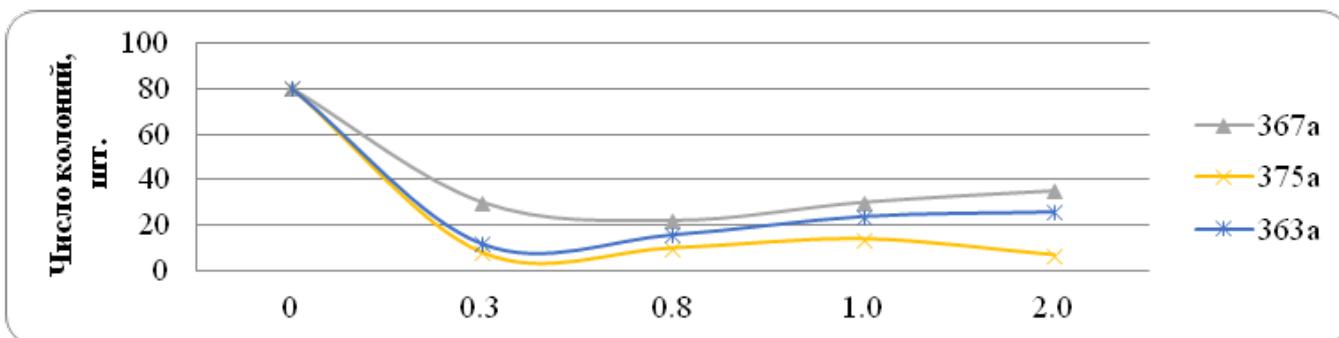


Рис. 2. Оценка устойчивости штаммов клубеньковых бактерий люпина к засолению  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , %

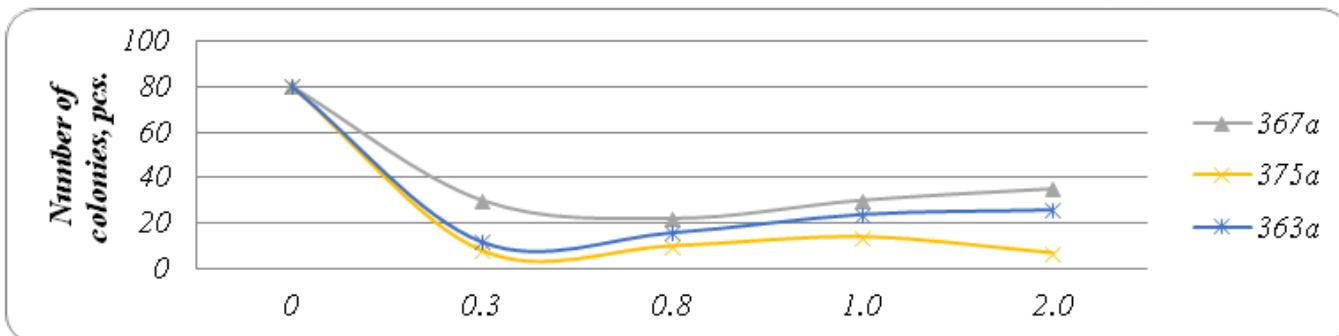


Fig. 2. Evaluation of the resistance of lupine nodule bacteria strains to salinity  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , %

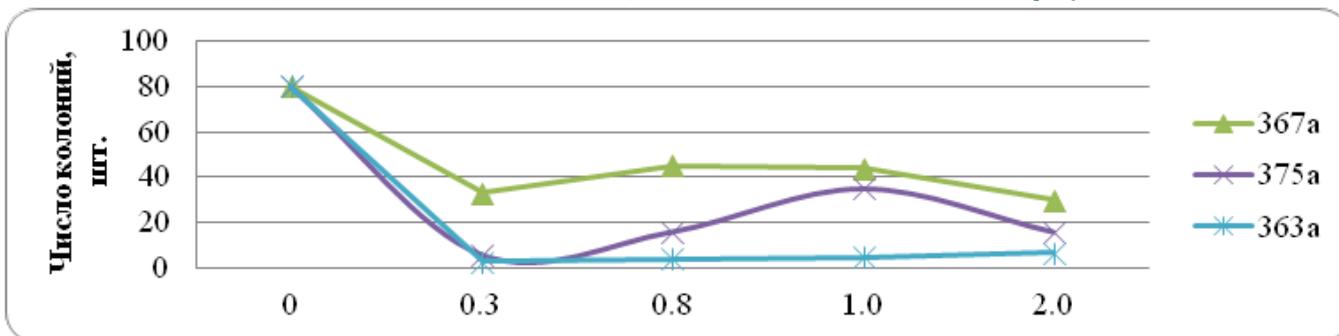


Рис. 3. Оценка устойчивости штаммов клубеньковых бактерий люпина к засолению  $\text{NaCl}$ , %

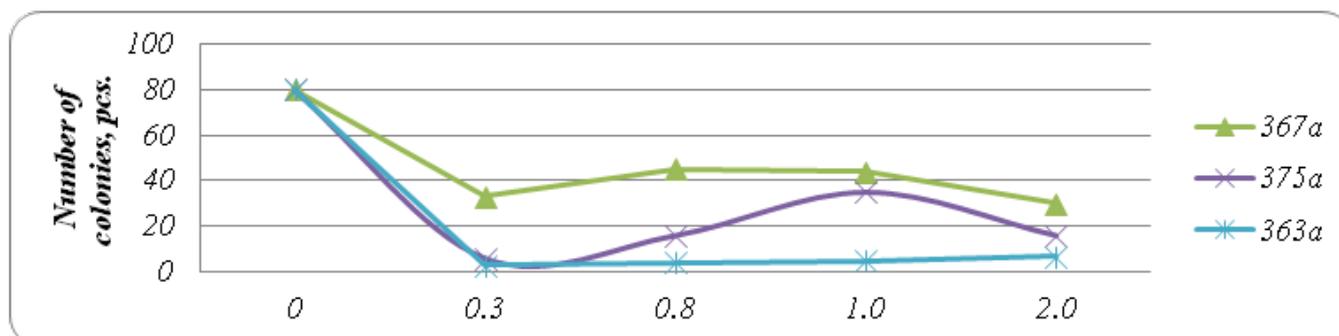


Fig. 3. Evaluation of the resistance of lupine nodule bacteria strains to salinity  $\text{NaCl}$ , %

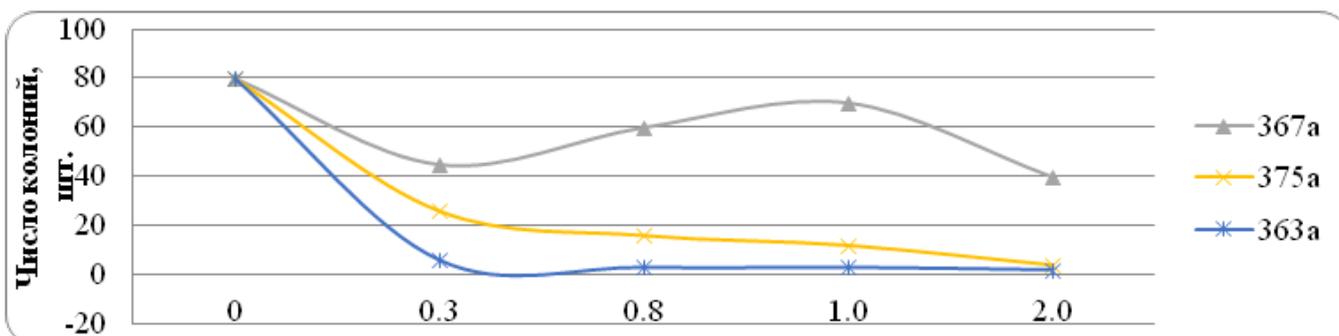


Рис. 4. Оценка устойчивости штаммов клубеньковых бактерий люпина к засолению  $\text{NaHCO}_3$ , %

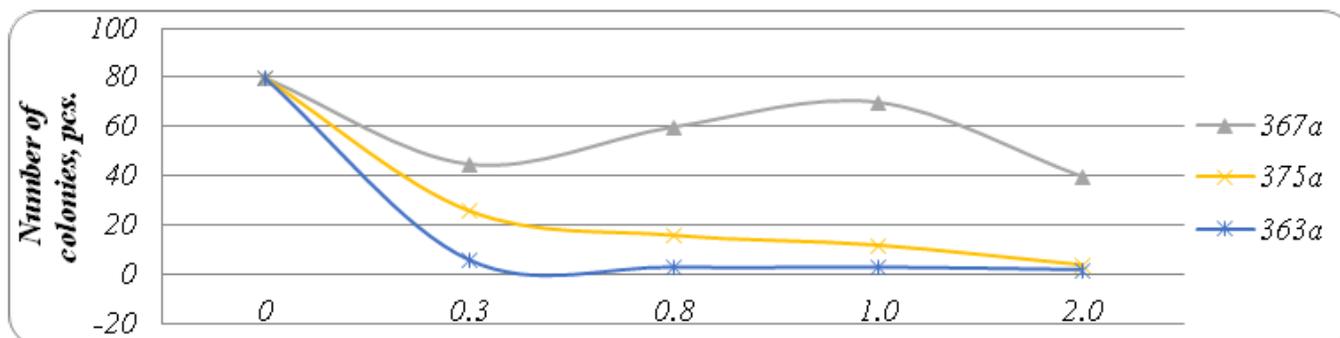


Fig. 4. Evaluation of the resistance of lupine nodule bacteria strains to salinity NaHCO<sub>3</sub>, %

Это проявлялось при нейтральной реакции среды (pH = 6,7) и осмотическом давлении 3,14–4,10 атм. Данное явление указывает, что при нейтральном засолении гибель колоний ризобий люпина во многом определяется осмотическим давлением и токсичностью ионов. Последующее увеличение концентраций нейтральных солей сопряжено с подавлением жизнедеятельности колоний относительно контрольного варианта. Важно отметить, что отрицательное действие MgSO<sub>4</sub> проявлялось в несколько меньшей степени на прорастание колоний, чем нейтральных натриевых солей (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaCl). Из всех представленных штаммов клубеньковых бактерий при нейтральном химизме наибольшей солеустойчивостью обладал штамм 367а, менее устойчивыми к засоленной среде были штаммы 375а и 363а. Это проявлялось применительно к каждой градации уровня засоления.

При содовом засолении (NaHCO<sub>3</sub> и Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) степень засоления 0,3 % вызывала реакцию водной среды от 9,2–9,8 при осмотическом давлении 3,90–4,32 атм. Численность колоний ризобий люпина в чашках Петри снижалась с 80 до 4–45 шт. (рис. 5, 6). Максимальная гибель колоний отмечалась при засолении нормальной соды (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>). Наиболее устойчивым к содовому засолению также оказался штамм 367а, особенно это проявлялось с добавлением гидрокарбонатной соды в питательной субстрат. Гибель колоний клубеньковых бактерий при содовом засолении обусловлена повышенной щелочной реакцией среды.

Сульфатно-хлоридное засоление не ослабляет отрицательного действия на жизнедеятельность колоний ризобий люпина в сравнении с засоленными средами Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и NaCl в отдельности. При этом химизме преимущество по численности колоний клубеньковых бактерий по всем изученным концентрациям по-прежнему сохранялось за штаммом 367а.

Важно отметить, что в исследованиях, проводимых на клубеньковых бактериях донника и люцерны, оптимальная степень засоления для них при нейтральном засолении колеблется от 0,3 до 0,8 % [16, с. 10]. Аналогичная степень засоления для клубеньковых бактерий люпина подавляет их жизнедеятельность относительно контроля.

Применительно к солонцовым почвам инактивация ризобий может усиливаться плохими водно-физическими и физико-химическими свойствами. Применительно к генетическим особенностям солонцов наибольшей эффективностью, очевидно, будут обладать те штаммы клубеньковых бактерий, которые имеют наибольшую солеу-

стойчивость [17, с. 55]. На способность рас клубеньковых бактерий выдерживать повышенные концентрации солей учеными практически уделялось мало внимания, так как исследования по биологической фиксации азота приурочены, как правило, к дерново-подзолистым, серым лесным и черноземным почвам.

Важно отметить, что в условиях лесостепной зоны Тюменской области из общей площади солонцов (301,5 тыс. га) половина приходится на долю корковых и мелких, где мощность гумусового горизонта составляет до 5–10 см. За ним следует плотный солонцовый горизонт с максимальным содержанием легкорастворимых солей и высоким насыщением обменным натрием. В естественном состоянии на таких почвах растут солевыносливые и солонцеустойчивые растения с крайне низкой продуктивностью, при этом бобовый компонент здесь полностью отсутствует. Необходимо указать, что клубеньковые бактерии без растения-хозяина обречены на отсутствие активности или вымирание. На средних и глубоких солонцах, где мощность гумусового горизонта составляет 11 см и выше, в естественном травостое могут ограниченно присутствовать бобовые компоненты. Это указывает на частичное ослабление отрицательных химических и физических свойств данных почв.

Агробиологический метод освоения солонцов и его сочетание даже с малыми дозами коагулянтов требует создания благоприятных условий для бобовых культур. В первую очередь это касается правильного подбора наиболее солеустойчивых штаммов клубеньковых бактерий, особенно на фоне осваиваемых корковых и мелких луговых солонцов, где изначально почвы обладают определенной стерильностью по отношению к ризобиям. Данное явление связано с проявлением плазмолиза клубеньковых бактерий в засоленной среде, при этом щелочная среда в условиях содового и сульфатно-содового засоления усиливает токсическое действие на микроорганизмы.

Проведение модельных опытов на питательных средах с заданным химизмом и степенью засоления позволило выявить реакцию разных штаммов донника и люцерны в условиях критического засоления как отдельными солями, так и их смешанными типами засоления. При несущественном различии количества колоний на контроле по изучаемым штаммам клубеньковых бактерий донника (260–290 шт. на чашку Петри при НСР<sub>05</sub> = 41,6) на вариантах с предельным засолением питательных сред реакция изучаемых штаммов ризобий была разной (рис. 7).

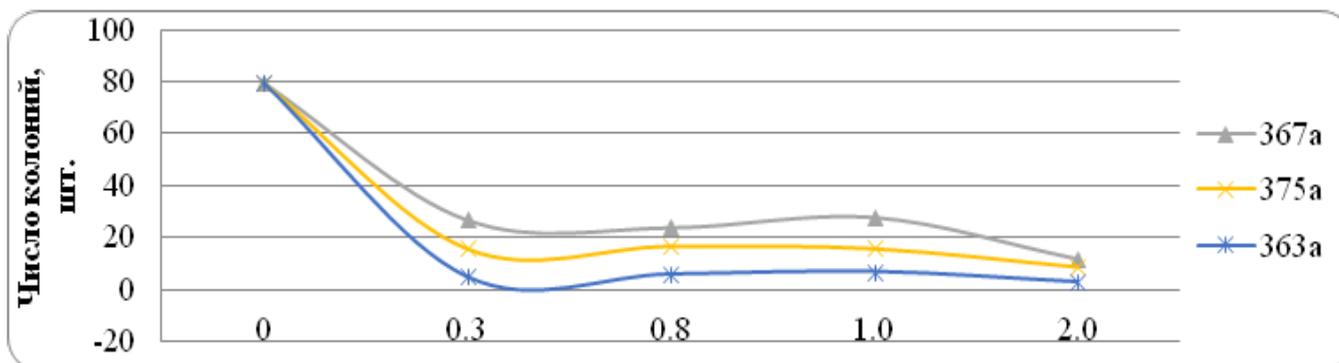


Рис. 5. Оценка устойчивости штаммов клубеньковых бактерий люпина к засолению Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, %

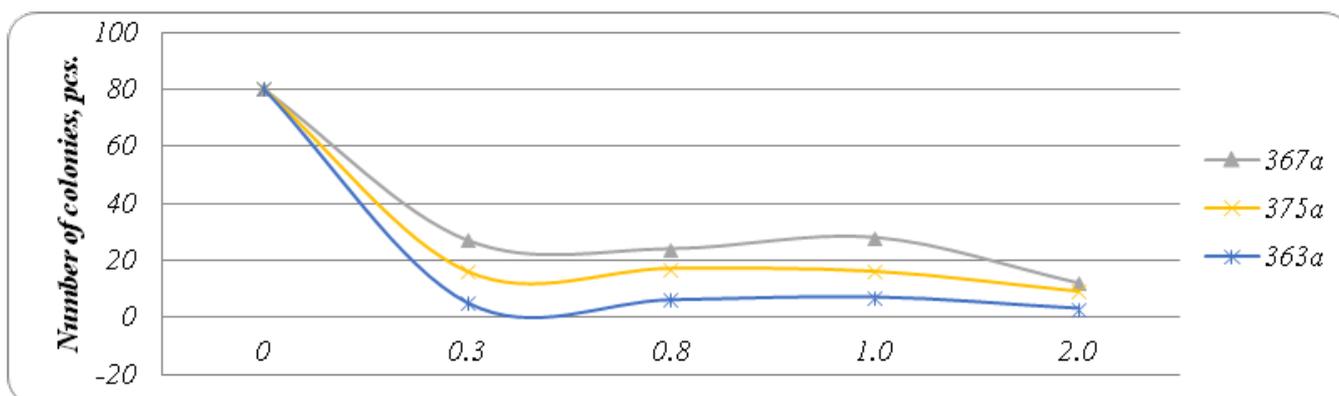


Fig. 5. Evaluation of the resistance of lupine nodule bacteria strains to salinity Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, %

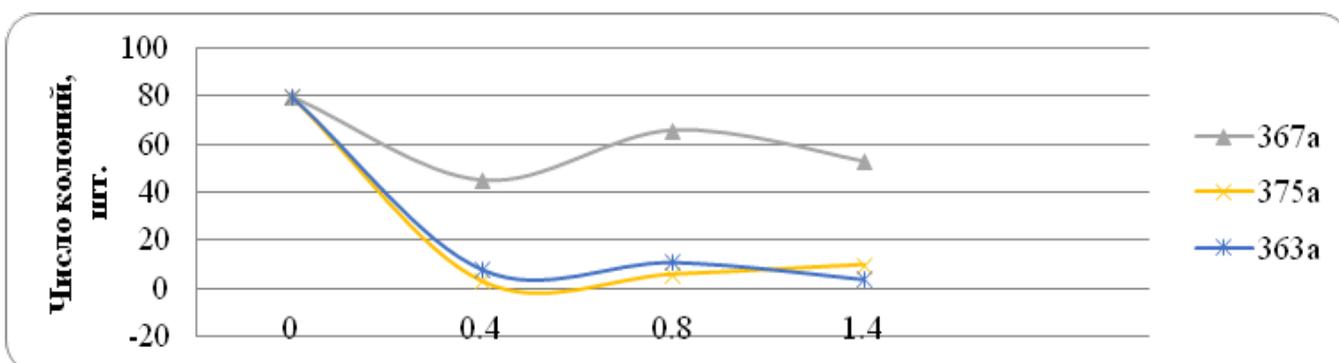


Рис. 6. Оценка устойчивости штаммов клубеньковых бактерий люпина к засолению сульфатно-хлоридному, %

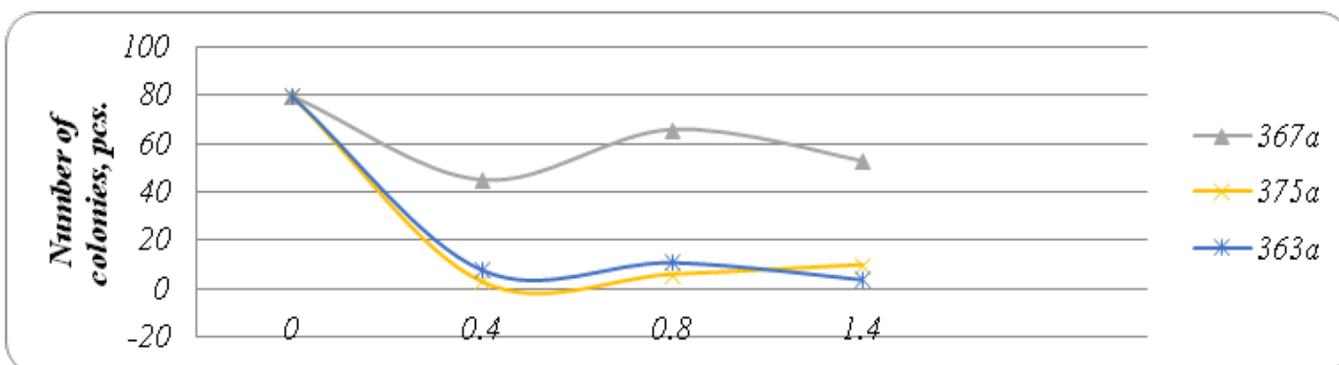


Fig. 6. Assessment of resistance of lupine nodule bacteria strains to sulfate-chloride salinization, %

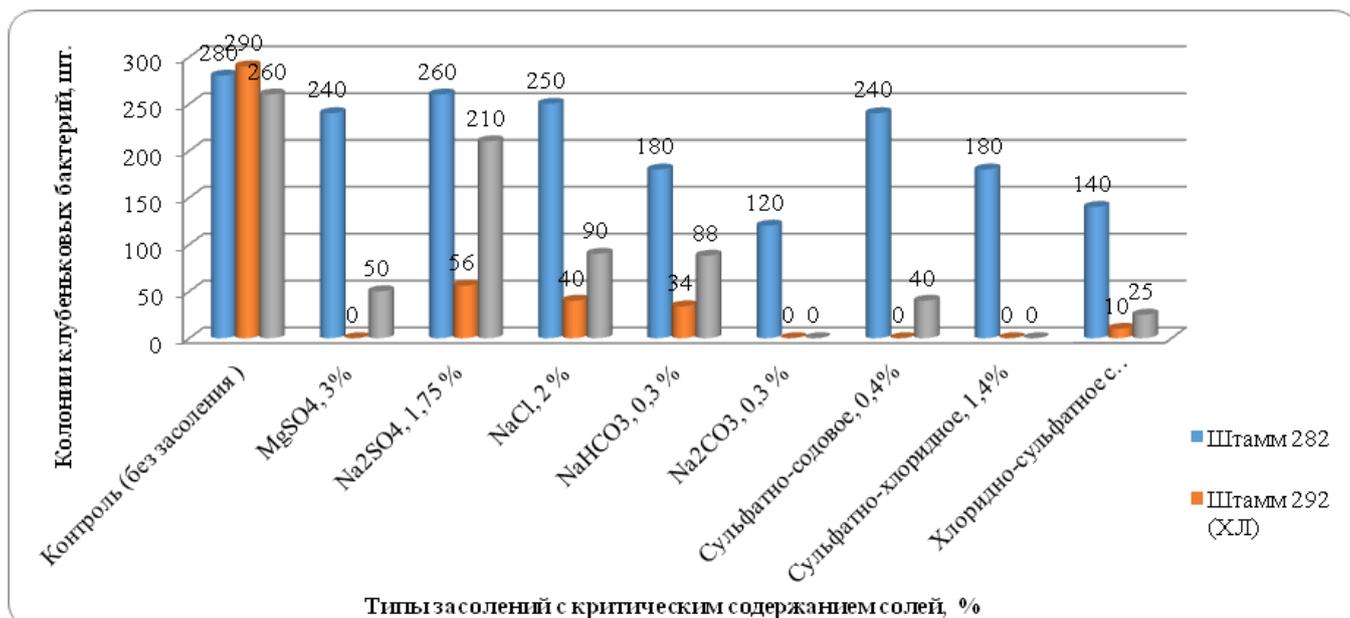


Рис. 7. Влияние критического засоления на численность колоний (шт.) разных штаммов клубеньковых бактерий донника

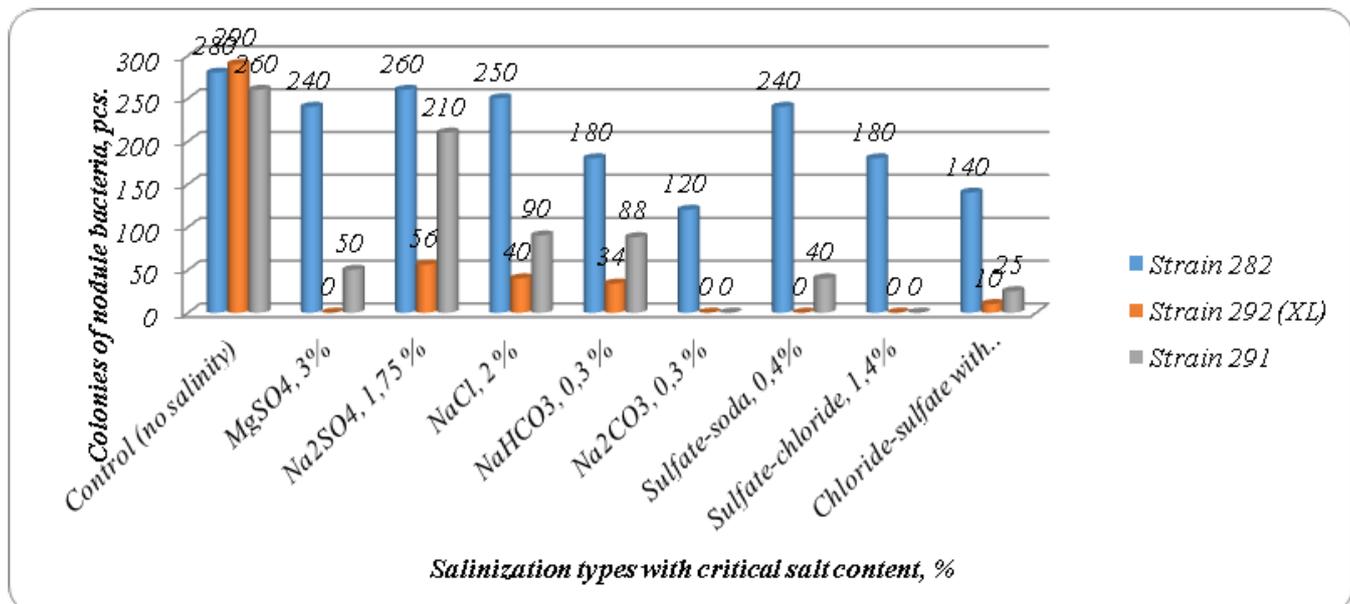


Fig. 7. Influence of critical salinity on the number of colonies (pcs.) of different strains of sweet clover root nodule bacteria

Так, штаммы 292 (ХЛ) и 291 по ряду вариантов с засолением бобового агара не обеспечивали появления колоний клубеньковых бактерий. Это указывает на полный плазмолиз ризобий в условиях избыточного засоления. Появление колоний данных штаммов по другим опытным вариантам было существенно ниже в сравнении с изучаемым штаммом 282. Данный штамм на всех средах засоленного бобового агара обеспечивал число колоний от 120–260 шт. на чашку Петри. Это указывает на целесообразность его использования при инокуляции семян донника в условиях агробиологического метода освоения как солонцов, так и техногенно засоленных грунтов.

Проведение модельных опытов с клубеньковыми бактериями люцерны показало, что численность бактерий разных штаммов на контроле колебалась от 280 до 325 шт. на чашку Петри при  $F_{\phi} < F_{05}$ . Посев опытных штаммов люцерны на засоленные среды также показал, что ряд изучаемых образцов за номером 4156, 4046, 4126, 4086 и

425а не обеспечивали появления колоний или их появление было незначительным (рис. 8).

По всем типам засоления опытный штамм 4236 давал существенное превышение числа колоний в сравнении с вышеперечисленными (от 8 до 180 шт. на чашку Петри). Использование штамма 4236 при рекультивации засоленных почв и грунтов в посевах люцерны будет обеспечивать максимальную жизнедеятельность клубеньковых бактерий, а следовательно, и фиксацию атмосферного азота.

**Обсуждение и выводы (Discussion and Conclusion)**

Таким образом, представленные результаты опытов показали, что колонии клубеньковых бактерий люпина крайне отрицательно реагируют на концентрацию солей в питательной среде 0,3 % и выше. Это характерно как для нейтрального, так и для содового засоления. Из трех изучаемых штаммов клубеньковых бактерий наиболее солеустойчивым был образец 367а. Штаммы 363а и 375а были менее устойчивы к засолению.

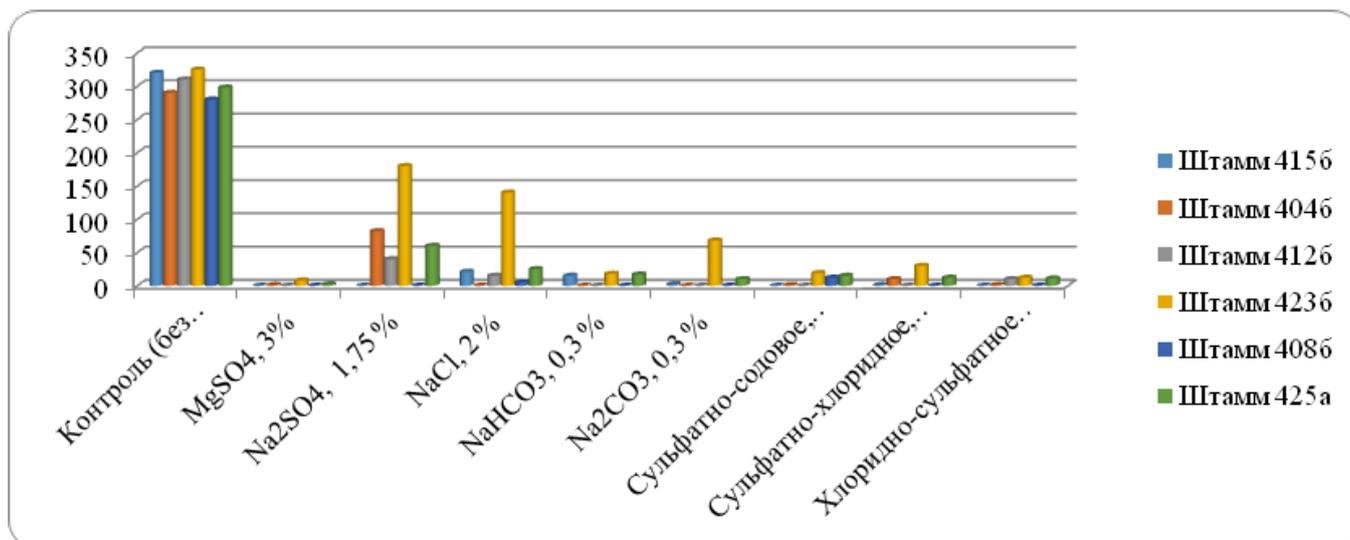


Рис. 8. Влияние критического уровня засоления на численность колоний клубеньковых бактерий люцерны

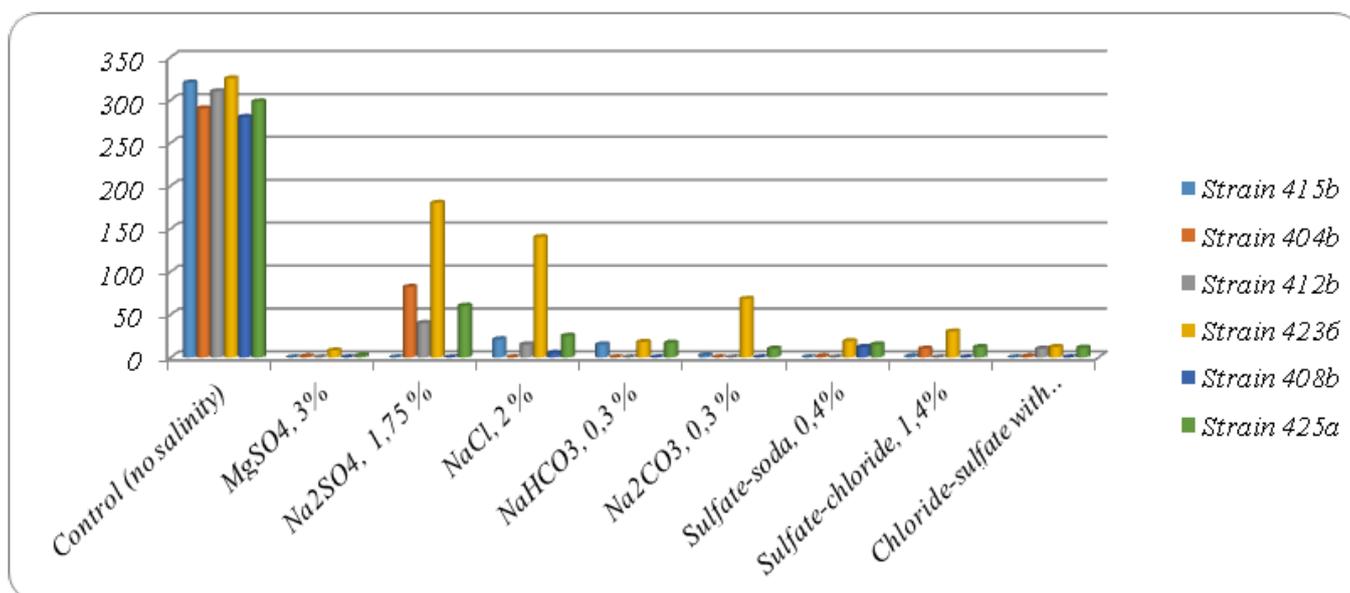


Fig. 8. Influence of the critical level of salinity on the number of colonies of alfalfa nodule bacteria

Искусственное создание высоких концентраций солей в бобовых питательных средах является предпосылкой к первоначальному тестированию штаммов клубеньковых бактерий донника и люцерны применительно к солонцо-

вым почвам и засоленным грунтам. Наибольшей устойчивостью к солям характеризовались штаммы донника 282 и люцерны 4236.

#### Библиографический список

1. Alferov A. A., Chernova L. S., Kozhemyakov A. P. Efficacy of biopreparations for spring wheat in the european part of Russia against different backgrounds of mineral nutrition // Russian Agricultural Sciences. 2018. Т. 44. No. 1. Pp. 53–57.
2. Ежов Г. И. Руководство к практическим заданиям по сельскохозяйственной микробиологии. Москва: Высшая школа, 1981. 271 с.
3. Vorobiev N. I., Pukhalsky Ya. V., Loskutov S., Sviridova O. V., Pishchik V. N., Osipov A. I., Yakubovskaya A. I., Kozhemyakov A. P. Agrotechnology for snapshots soil health with bacteria // In: International Scientific and Practical Conference "AgroSMART – Smart Solutions for Agriculture". Tyumen, 2019. Pp. 488–496.
4. Кожемяков А. П. Перспективы эффективного применения земледобрильных биопрепаратов в земледелии и растениеводстве // Перспективы использования инновационных форм удобрений, средств защиты и регуляторов роста растений в агротехнологиях сельскохозяйственных культур: материалы докладов участников 9-й научно-практической конференции «Анапа-2016». Анапа, 2016. С. 81–83.
5. Кожемяков А. П., Лактионов Ю. В., Попова Т. А., Орлова А. Г., Кокорина А. Л., Вайшла О. Б., Агафонов Е. В., Гужвин С. А., Чураков А. А., Яковлева М. Т. Агротехнологические основы создания усовершенствованных форм микробных биопрепаратов для земледелия // Сельскохозяйственная биология. 2015. Т. 50. № 3. С. 369–376.

6. Лактионов Ю. В., Яхно В. В., Кожемяков А. П. Новые подходы в культивировании и применении микробиологических препаратов для растениеводства // Современное состояние, проблемы и перспективы развития аграрной наук: материалы III Международной научной конференции. 2018. С. 38–39.
7. Лактионов Ю. В., Косильников Ю. В., Дудникова Д. В., Яхно В. В., Кожемяков А. П. Оценка устойчивости штаммов клубеньковых бактерий сои к рекомендуемым химическим фунгицидам // Зерновое хозяйство России. 2019. № 1 (61). С. 62–67.
8. Мунтян В. С., Акинина Ю. Н., Симаров Б. В., Румянцева М. Л. Анализ структурного полиморфизма гена *putA*, вовлеченного в метаболизм пролина у природных штаммов *Sinorhizobium meliloti* // Актуальная биотехнология. 2018. № 3 (26). С. 429–431.
9. Петухова В. С., Скипин Л. Н., Богданова О. Г. Совершенствование способов рекультивации буровых шламов. Тюмень: ТИУ, 2017. 140 с.
10. Посыпанов Г. С. Методы изучения биологической фиксации азота воздуха. Москва: Агропромиздат, 1991. 299 с.
11. Румянцева М. Л., Владимировичева М. Е., Мунтян В. С., Степанова Г. В., Саксаганская А. С., Кожемяков А. П., Орлова А. Г., Becker A., Симаров Б. В. Высокоэффективные штаммы клубеньковых бактерий люцерны (*Medicago varia* L.): молекулярно-генетическая характеристика и использование в сопряженной селекции // Сельскохозяйственная биология. 2019. Т. 54. № 6. С. 1306–1323.
12. Roumiantseva M. L., Muntyan V. S., Cherkasova M. E., Saksaganskaya A. S., Andronov E. E., Simarov B. V. Genomic islands in *sinorhizobium meliloti* RM1021, nitrogen-fixing symbiont of alfalfa // Russian Journal of Genetics. 2018. Т. 54. No. 7. Pp. 759–769.
13. Саксаганская А. С., Мунтян В. С., Румянцева М. Л. Полиморфизм генов клубеньковых бактерий *Sinorhizobium meliloti*, детерминирующих вирулентность и стрессоустойчивость // В книге: Биология – Наука XXI века. Сборник тезисов. Магнитогорск: КТ «Буки-Веди», 2016. С. 44–45.
14. Саксаганская А. С., Козлова А. П., Мунтян В. С., Румянцева М. Л. Динамика образования клубеньков на корнях люцерны штаммами *Sinorhizobium meliloti* разных NOD-генотипов // Экспериментальные и теоретические исследования в современной науке: сборник статей по материалам V международной научно-практической конференции. Новосибирск, 2017. С. 50–56.
15. Скипин Л. Н., Петухова В. С., Перфильев Н. В., Храмов Н. В. Параметры жизнедеятельности клубеньковых бактерий при изменении эдафических факторов // Вестник КрасГАУ. 2014. № 6 (93). С. 103–108.
16. Скипин Л. Н. Солонцы Сибири: экологические аспекты освоения. Тюмень, 2000. 261 с.
17. Фунг Т. М. В., Манучарова Н. А., Степанов А. Л., Поздняков Л. А., Селицкая О. В., Емцев В. Т. *Agrobacterium tumefaciens* – ассоциативная азотфиксирующая бактерия // Вестник Московского университета. Серия 17: Почвоведение. 2015. № 3. С. 50–55.
18. Якоби Л. М., Железняков С. В., Сметанин Р. В., Лебедева В. К., Кожемяков А. П. Исследование индуцированного мутанта люцерны хмелевидной (*Medicago lupulina* SUBSP. *vulgaris* Koch) по симбиотическим признакам при образовании микоризного симбиоза // VII Съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвященный 100-летию кафедры генетики СПбГУ, и ассоциированные симпозиумы: сборник тезисов Международного Конгресса. Санкт-Петербург, 2019. С. 960.
19. Yakobi L. M., Zheleznyakov S. V., Kozhemyakov A. P. Morphological description of non-effective arbuscular mycorrhiza developed by plant mutant (*Medicago lupulina* L. Subsp. *vulgaris* Koch.) in association with rhizophagus *irregularis* // PLAM-IC 2018 “Plants and microorganisms: Biotechnology of the future”: proceedings of the international scientific conference. Ufa, 2018. P. 35.

#### Об авторах:

Леонид Николаевич Скипин<sup>1</sup>, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, профессор кафедры техносферной безопасности, ORCID 0000-0001-5778-9872, AuthorID 436872; +7 912 992-45-55

Елена Викторовна Гаевая<sup>1</sup>, кандидат биологических наук, доцент, профессор кафедры техносферной безопасности, ORCID 0000-0002-0631-9149, AuthorID 816670; +7 922 269-17-81, [gaevajae@tyuiu.ru](mailto:gaevajae@tyuiu.ru)

Светлана Сергеевна Тарасова<sup>1</sup>, ассистент кафедры техносферной безопасности, ORCID 0000-0002-5684-2819, AuthorID 933439; +7 982 935-08-91

<sup>1</sup> Тюменский индустриальный университет, Тюмень, Россия

## Testing of nodule bacteria for naturally and technogenically saline soils and grounds

L. N. Skipin<sup>1</sup>, E. V. Gaevaya<sup>1✉</sup>, S. S. Tarasova<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Tyumen Industrial University, Tyumen, Russia

✉E-mail: gaevayaev@tyuiu.ru

**Abstract.** The area of natural saline lands in Russia is about 30 million hectares. At present, the growth of technogenically saline areas is associated with the extraction of minerals (agro-ore) and the formation of drill pits when drilling wells for the purpose of exploration and production of hydrocarbons. The number of drilling pits with a high salt content in the Khanty-Mansiysk autonomous okrug is about 3 thousand, about the same number of them in the Yamal-Nenets autonomous okrug, in the south of the Tyumen region their number is increasing in the Uvat region. Reclamation of these territories includes technical and biological stages of reclamation. The biological stage is associated with the use of phytomeliorant cultures. The inclusion of a legume component in the composition of phytomeliorants assumes its joint use with the preparation of an active strain of nodule bacteria. **The aim of the research** is to identify the most salt-tolerant strain of lupine nodule bacteria at different chemistry and degree of salinity of the environment. **Research methodology and methods.** Laboratory experiments in Petri dishes were used to test lupine nodule bacteria for salt resistance and salinity chemistry. Nodule bacteria of lupine strains 363a, 367a, 375a were taken directly from rhizotorphin preparations, the degree of dilution was brought to a certain titer corresponding to about 80 colonies per Petri dish. Nodule bacteria for melilot were represented by strains 282, 292 (CL) and 291, and for alfalfa, respectively, 451b, 404b, 412b, 423b, 408b and 425a. They were seeded with the same titer. **Results.** The presented results of experiments showed that colonies of lupine nodule bacteria react extremely negatively to the salt concentration in the nutrient medium of 0.3 % or higher. This is typical for both neutral and soda salinity. Of the three studied strains of nodule bacteria, sample 367a was the most salt-resistant. Of the presented strains of sweet clover and alfalfa, strains 282 and 423b had the highest salt tolerance, respectively. **Scientific novelty.** For the first time, strains of lupine nodule bacteria have been tested for salt tolerance in relation to different chemistry and degree of salinity identical to technogenic soils and saline soils.

**Keywords:** nodule bacteria, colonies, chemistry and degree of salinity, osmotic pressure, strains, pH of the medium.

**For citation:** Skipin L. N., Gaevaya E. V., Tarasova S. S. Testirovanie kluben'kovykh bakteriy dlya prirodno i tekhnogenno zasolennykh pochv i gruntov [Testing of nodule bacteria for naturally and technogenically saline soils and grounds] // Agrarian Bulletin of the Urals. 2020. Special issue "Biology and biotechnologies". Pp. 81–90. DOI: ... (In Russian.)

**Paper submitted:** 08.12.2020.

### References

1. Alferov A. A., Chernova L. S., Kozhemyakov A. P. Efficacy of biopreparations for spring wheat in the european part of Russia against different backgrounds of mineral nutrition // Russian Agricultural Sciences. 2018. T. 44. No. 1. Pp. 53–57.
2. Ezhov G. I. Rukovodstvo k prakticheskim zadaniyam po sel'skokhozyaystvennoy mikrobiologii [A guide to practical exercises in agricultural microbiology] // Moscow: Vysshaya shkola, 1981. 271 p. (In Russian.)
3. Vorobiev N. I., Pukhalsky Ya. V., Loskutov S., Sviridova O. V., Pishchik V. N., Osipov A. I., Yakubovskaya A. I., Kozhemyakov A. P. Agrotechnology for snapshots soil health with bacteria // In: International Scientific and Practical Conference "AgroSMART – Smart Solutions for Agriculture". Tyumen, 2019. Pp. 488–496.
4. Kozhemyakov A. P. Perspektivy effektivnogo primeneniya zemleudobritel'nykh biopreparatov v zemledelii i rastenievodstve [Prospects for the effective use of land-fertilizing biological products in agriculture and crop production] // Perspektivy ispol'zovaniya innovatsionnykh form udobreniy, sredstv zashchity i regulyatorov rosta rasteniy v agrotekhnologiyakh sel'skokhozyaystvennykh kul'tur: materialy dokladov uchastnikov 9-y nauchno-prakticheskoy konferentsii "Anapa-2016". Anapa, 2016. Pp. 81–83. (In Russian.)
5. Kozhemyakov A. P., Laktionov Yu. V., Popova T. A., Orlova A. G., Kokorina A. L., Vayshlya O. B., Agafonov E. V., Guzhvin S. A., Churakov A. A., Yakovleva M. T. Agrotekhnologicheskie osnovy sozdaniya usovershenstvovannykh form mikrobynykh biopreparatov dlya zemledeliya [Agrotechnological bases of creation of improved forms of microbial biological products for agriculture] // Sel'skokhozyaystvennaya biologiya. 2015. T. 50. No. 3. Pp. 369–376. (In Russian.)
6. Laktionov Yu. V., Yakhno V. V., Kozhemyakov A. P. Novye podkhody v kul'tivirovani i primenenii mikrobiologicheskikh preparatov dlya rastenievodstva [New approaches in the cultivation and application of microbiological preparations for crop production] // Sovremennoe sostoyanie, problemy i perspektivy razvitiya agrarnoy nauk: materialy III Mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii. 2018. Pp. 38–39. (In Russian.)
7. Laktionov Yu. V., Kosul'nikov Yu. V., Dudnikova D. V., Yakhno V. V., Kozhemyakov A. P. Otsenka ustoychivosti shtammov kluben'kovykh bakteriy soi k rekomenduemykh khimicheskim fungitsidam [Evaluation of resistance of soybean nodule bacteria strains to recommended chemical fungicides] // Grain Economy of Russia. 2019. No. 1 (61). Pp. 62–67. (In Russian.)

8. Muntyan V. S., Akinina Yu. N., Simarov B. V., Rummyantseva M. L. Analiz strukturnogo polimorfizma gena puta, вовлеченного в метаболизм пролина у природных штаммов *Sinorhizobium meliloti* [Analysis of structural polymorphism of the puta gene involved in proline metabolism in natural strains of *Sinorhizobium meliloti*] // Aktual'naya biotekhnologiya. 2018. No. 3 (26). Pp. 429–431. (In Russian.)
9. Petukhova V. S., Skipin L. N., Bogdanova O. G. Sovershenstvovanie sposobov rekul'tivatsii burovykh shlamov [Improvement of methods of remediation of drill cuttings]. Tyumen: TIU, 2017. 140 p. (In Russian.)
10. Posypanov G. S. Metody izucheniya biologicheskoy fiksatsii azota vozdukh [Methods for studying the biological fixation of air nit]. Moscow: Agropromizdat, 1991. 299 p. (In Russian.)
11. Rummyantseva M. L., Vladimirova M. E., Muntyan V. S., Stepanova G. V., Saksaganskaya A. S., Kozhemyakov A. P., Orlova A. G., Becker A., Simarov B. V. Vysokoeffektivnye shtammy kluben'kovykh bakteriy lyutserny (*Medicago Varia L.*): molekulyarno-geneticheskaya kharakteristika i ispol'zovanie v sopryazhennoy selektsii [Highly effective strains of alfalfa nodule bacteria (*Medicago Varia L.*): molecular genetic characterization and use in conjugate breeding] // Sel'skokhozyaystvennaya biologiya. 2019. T. 54. No. 6. Pp. 1306–1323. (In Russian.)
12. Roumiantseva M. L., Muntyan V. S., Cherkasova M. E., Saksaganskaya A. S., Andronov E. E., Simarov B. V. Genomic islands in *sinorhizobium meliloti* RM1021, nitrogen-fixing symbiont of alfalfa // Russian Journal of Genetics. 2018. T. 54. No. 7. Pp. 759–769.
13. Saksaganskaya A. S., Muntyan V. S., Rummyantseva M. L. Polimorfizm genov kluben'kovykh bakteriy *Sinorhizobium meliloti*, determiniruyushchikh virulentnost' i stressoustoychivost' [Gene polymorphism of nodule bacteria *Sinorhizobium meliloti*, determining virulence and stress resistance] // V knige: Biologiya – Nauka KhKhI veka. Sbornik tezisov. Magnitogorsk: KT "Buki-Vedi", 2016. Pp. 44–45. (In Russian.)
14. Saksaganskaya A. S., Kozlova A. P., Muntyan V. S., Rummyantseva M. L. Dinamika obrazovaniya kluben'kov na kornyakh lyutserny shtammami *Sinorhizobium meliloti* raznykh NOD-genotipov [Dynamics of nodule formation on alfalfa roots by *Sinorhizobium meliloti* strains of different NOD genotypes] // Eksperimental'nye i teoreticheskie issledovaniya v sovremennoy nauke: sbornik statey po materialam V mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii. Novosibirsk, 2017. Pp. 50–56. (In Russian.)
15. Skipin L. N., Petukhova V. S., Perfil'ev N. V., Khramtsov N. V. Parametry zhiznedeyatel'nosti kluben'kovykh bakteriy pri izmenenii edaficheskikh faktorov [Parameters of vital activity of nodule bacteria when changing edaphic factors] // The Bulletin of KrasGAU. 2014. No. 6 (93). Pp. 103–108. (In Russian.)
16. Skipin L. N. Solontsy Sibiri: ekologicheskie aspekty osvoeniya [Solonets of Siberia: ecological aspects of development]. Tyumen, 2000. 261 p. (In Russian.)
17. Fung T. M. V., Manucharova N. A., Stepanov A. L., Pozdnyakov L. A., Selitskaya O. V., Emtsev V. T. *Agrobacterium tumefaciens* – assotsiativnaya azotfiksiruyushchaya bakteriya [Agrobacterium tumefaciens-associative nitrogen-fixing bacterium] // Moscow University Soil Science Bulletin. 2015. No. 3. Pp. 50–55. (In Russian.)
18. Yakobi L. M., Zheleznyakov S. V., Smetanin R. V., Lebedeva V. K., Kozhemyakov A. P. Issledovanie indutsirovannogo mutanta lyutserny khmelevidnoy (*Medicago lupulina* L. SUBSP. *Vulgaris koch*) po simbioticheskim priznakam pri obrazovanii mikoriznogo simbioza [Study of the induced mutant of alfalfa hop (*Medicago lupulina* L. SUBSP. *Vulgaris koch*) by symbiotic traits in the formation of mycorrhizal symbiosis] // VII S"ezd Vavilovskogo obshchestva genetikov i selektsionerov, posvyashchenny 100-letiyu kafedry genetiki SPbGU, i assotsiirovannye simpoziumy: sbornik tezisov Mezhdunarodnogo Kongressa. Saint Petersburg, 2019. P. 960. (In Russian.)
19. Yakobi L. M., Zheleznyakov S. V., Kozhemyakov A. P. Morphological description of non-effective arbuscular mycorrhiza developed by plant mutant (*Medicago lupulina* L. Subsp. *Vulgaris koch*.) in association with *rhizophagus irregularis* // PLAM-IC 2018 "Plants and microorganisms: Biotechnology of the future": proceedings of the international scientific conference. Ufa, 2018. P. 35.

#### Authors' information:

Leonid N. Skipin<sup>1</sup>, doctor of agricultural sciences, professor, professor of the department of technosphere safety, ORCID 0000-0001-5778-9872, AuthorID 436872; +7 912 992-45-55

Elena V. Gaevaya<sup>1</sup>, candidate of biological sciences, associate professor, professor of the department of technosphere safety, ORCID 0000-0002-0631-9149, AuthorID 816670; +7 922 269-17-81, [gaevajaev@tyuiu.ru](mailto:gaevajaev@tyuiu.ru)

Svetlana S. Tarasova<sup>1</sup>, assistant of the department of technosphere safety, ORCID 0000-0002-5684-2819, AuthorID 933439; +7 982 935-08-91

<sup>1</sup> Tyumen Industrial University, Tyumen, Russia