

ВЫДЕЛЕНИЕ НОВЫХ ШТАММОВ БАКТЕРИЙ *VACILLUS MEGATERIUM* И ИЗУЧЕНИЕ ИХ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ

Сулдына Екатерина Владимировна, ассистент кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза»

Феоктистова Наталья Александровна, кандидат биологических наук, доцент кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза»

Богданов Ильгизар Исмаилович, кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза»

ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

432017, г. Ульяновск, бульвар Новый Венец, 1; тел. 8(8422) 49-55-63;

Email: e.suldina2006@yandex.ru

Ключевые слова: *Vacillus megaterium*, биологические свойства, схема выделения, идентификация, видовая принадлежность

Vacillus megaterium - это грамположительные палочковидные эндоспорообразующие бактерии. Они используются как эффективный модификатор почвы, обладая способностью растворять фосфор. В свою очередь фосфор играет важную роль в нескольких физиологических и биохимических процессах растений, таких как фотосинтез, преобразование сахара в крахмал, перенос генетических признаков. Опираясь на современное состояние исследований в области разработки биоудобрений можно утверждать, что биокомпозиция частью которой будут бактерии *Vacillus megaterium* приведет к повышению доступности для растений ряда макроэлементов – основных элементов питания. В данной работе представлены результаты проведенных скрининговых исследований созданной нами ранее коллекции бактериальных штаммов *Vacillus megaterium* из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ Ульяновского ГАУ. Приводится разработанная схема выделения и идентификации бактерий *Vacillus megaterium*. Подтверждена видовая принадлежность 6 штаммов *V. megaterium*. Результаты исследований приведены в сравнении с характерными фенотипическими свойствами исследуемого вида, описанного в «*Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*» (2015). Для выделения новых штаммов микроорганизмов было отобрано 210 проб почвы. Первичная идентификация позволила изолировать 58 штаммов бактерий рода *Vacillus*, 16 отнесены к *Vacillus megaterium*. Процент контаминации проб почвы бактериями этого вида составил – 7,6 %. В результате проведенных исследований была расширена коллекция бактериальных штаммов изучаемых микроорганизмов, определена их таксономическая принадлежность. Полученная коллекция будет являться объектом исследования на последующих этапах работы по разработке биокомпозиции на основе бактерий для повышения коэффициента усвоения минеральных компонентов удобрений.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Ульяновской области в рамках научного проекта № 19-416-730004

Введение

Микроорганизм *Vacillus megaterium* был открыт и описан [1] в 1884 году. *Vacillus megaterium* - это грамположительные палочковидные эндоспорообразующие бактерии. Они используются как эффективный модификатор почвы, обладают способностью растворять фосфор. В свою очередь фосфор играет важную роль в нескольких физиологических и биохимических процессах растений, таких как фотосинтез, преобразование сахара в крахмал, перенос генетических признаков.

Для достижения высокого урожая в сельском хозяйстве необходимо применять минеральные удобрения, доставляющие питательные вещества к растениям [2], однако их производство - дорогостоящий процесс, который требует использования невозобновляемых ре-

сурсов, минеральных кислот и приводит к образованию множества вредных для окружающей среды побочных продуктов [3-4].

Мобилизирующие микроорганизмы распространены в почвах повсеместно и могут играть важную роль в обеспечении растений макроэлементами.

Так, группа китайских исследователей [5] пришла к выводу, что солюбилизующие бактерии превращают нерастворимый калий в почве в форму, доступную для растений. Эта многообещающая стратегия для улучшения поглощения растениями калия позволит уменьшить использование химических удобрений.

Согласно данным иранских ученых [6], применение фосфат-солюбилизующих бактерий в полевых испытаниях позволило увеличить урожайность зерен риса, общее количество сте-

блей и высоту растений. Результаты показали, что применение тройного суперфосфата вместе с инокулятами фосфат-солубилизирующих бактерий привело к сокращению использования химических удобрений (около 67%) и повышению эффективности их использования.

Бактерии, обитающие в ризосфере сельскохозяйственных культур, могут благотворно влиять на их рост. Одним из таких механизмов является солубилизация и реминерализация сложных форм фосфора (P) на основе микроорганизмов. Известно, что бактерии выделяют различные фосфатазы в ответ на низкое содержание фосфора [7].

Nosheen A. [8] изучал возможность эффективного управления питательными веществами и ферментативной активностью в почве для максимального роста и производительности сельскохозяйственных культур путем применения фосфатно-солубилизирующих бактерий и агрохимикатов.

Эффективность использования почвенных фосфатных удобрений в карбонатных почвах составляет менее 25%. Фосфор из этих удобрений фиксируется или осаждается Ca²⁺ и Mg²⁺. Эта эффективность может быть улучшена за счет использования фосфоросолубилизирующих бактерий.

Имеются сведения о проведенном эксперименте по исследованию вклада фосфатных солубилизирующих бактерий *Pseudomonas* и *Bacillus* вместе с тройным суперфосфатом и коровьим навозом [9] для питания N, P и K в пшенице в течение 90 дней.

Hien N. T. [10] дал оценку последовательного положительного влияния удобрения, содержащего бактерии *Bacillus*, на урожайность зерна и агрономические показатели.

Saha M. et al [11] исследовали в общей сложности пятьдесят штаммов бактерий-солубилизаторов калия. Штаммы бактерий *Bacillus* и *Pseudomonas* показали значительно более высокую K – солубилизацию 7.22 и 6.03 мкг/мл-1 в 30⁰C и pH 7,0, соответственно.

Опираясь на современное состояние исследований в области разработки биоудобрений, можно утверждать, что биокомпозиция, частью которой будут бактерии *Bacillus megaterium*, приведет к повышению доступности для растений таких элементов питания, как азот, фосфор и калий. Выделение бациллярных штаммов, обладающих такими свойствами и изучение их биологии, проводилось рядом исследователей [12-20]. Однако информации о

штаммах *Bacillus megaterium*, циркулирующих в России и Ульяновской области в открытых литературных источниках, нами не обнаружено.

В связи с этим цель данной работы – провести скрининговые исследования коллекции бактерий *Bacillus megaterium*, созданной нами ранее, и выделить из объектов внешней среды новые штаммы микроорганизмов, определив их таксономическую принадлежность на основании изучения тинкториальных, культуральных и биохимических свойств и сравнения полученных данных с характерными фенотипическими свойствами бактерий вида *Bacillus megaterium*, описанными в «*Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*» (2015).

Материалы и методы исследований

Штаммы бактерий: в работе были использованы:

- контрольные (референтные) штаммы каждого вида из официальных депозитариев - 2 штамма бактерии вида *Bacillus megaterium*: 182, И9
- полученные из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ Ульяновского ГАУ - 6 штаммов бактерии вида *Bacillus megaterium*: K8, П2, О1, О5, Т3, Т7.

Культуры бактерий обладали типичными для данного вида культуральными, морфологическими и биохимическими свойствами.

В качестве объектов исследования было использовано 210 образцов почвы, полученные нами из всех районов Ульяновской области.

Питательные среды и реактивы: Для бактериологического исследования использовали питательные среды: мясопептонный бульон (ФБУН ГНЦ ПМБ, РФ, ГРМ – бульон, ТУ 9398 – 021 – 78095326 - 2006); мясопептонный агар (Агар питательный, ФС 42 – 14 – 33 - 75); среда Донована; среда с содержанием липазы; желатиновая среда; картофельный агар; среда Гисса с сорбитом (ФБУН ГНЦ ПМБ, РФ); среда Гисса с глюкозой (ФБУН ГНЦ ПМБ, РФ); среда Гисса с мальтозой (ФБУН ГНЦ ПМБ, РФ), среда Гисса с лактозой (ФБУН ГНЦ ПМБ, РФ); среда Симмонса (SIMMONS CITRATE AGAR ISO 10273, pronadisa, Spain); среда с нитратами; среда с аминокислотами.

Лабораторная посуда и оборудование: термостат ТС-80М-2, автоклав ГК-100-3, шкаф сушильно стерилизационный ШСС-80п УХЛ 42, холодильник бытовой, дистиллятор, микроскоп «Биомед-6» с видеофотонасадкой, термостаты настольные лабораторная посуда.

Методы

Для изучения тинкториальных, культу-

Таблица 1

Результаты скрининговых исследований штаммов *Bacillus megaterium* из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ Ульяновского ГАУ для создания схемы выделения и их биологической идентификации

| Характеристика | Результаты скрининговых исследований бактерий <i>Bacillus megaterium</i> из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ Ульяновского ГАУ | | | | | | |
|--------------------------------------|--|--------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|
| | основные свойства бактерий <i>Bacillus megaterium</i> согласно «Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria» | K8 | П2 | O1 | O5 | T3 | T7 |
| пигментация | - | - | - | - | - | - | - |
| подвижность | + | + | + | + | + | + | + |
| окраска по Граму | Гр+ | Гр+ | Гр+ | Гр+ | Гр+ | Гр+ | Гр+ |
| форма спор | | эллипсоидная цилиндрическая | | | | | |
| -эллипсоидная | + | | | | | | |
| -цилиндрическая | | | | | | | |
| каталаза | + | + | + | + | + | + | + |
| рост в анаэробных условиях | + | + | + | + | + | + | + |
| рост в аэробных условиях | + | + | + | + | + | + | + |
| Ферментация | | | | | | | |
| L-арабинозы | + | + | + | + | + | + | + |
| D-глюкозы | + | + | + | + | + | + | + |
| гликогена | + | + | + | + | + | + | + |
| D-маннит | + | + | + | + | + | + | + |
| D-маннозы | - | - | - | - | - | - | - |
| салицина | + | + | + | + | + | + | + |
| D-ксилозы | + | + | + | + | + | + | + |
| галактозы | + | + | + | + | + | + | + |
| лактозы | + | + | + | + | + | + | + |
| мальтозы | + | + | + | + | + | + | + |
| раффинозы | + | + | + | + | + | + | + |
| рамнозы | - | - | - | - | - | - | - |
| рибозы | + | + | + | + | + | + | + |
| сорбитола | d | - | - | - | - | - | - |
| L-ксилозы | - | - | - | - | - | - | - |
| Гидролиз | | | | | | | |
| казеина | + | + | + | + | + | + | + |
| крахмала | + | + | + | + | + | + | + |
| мочевины | - | - | - | - | - | - | - |
| Иные биохимические свойства | | | | | | | |
| цитрата | + | + | + | + | + | + | + |
| гемолитическая активность | н | - | - | - | - | - | - |
| желатиназная активность | + | + | + | + | + | + | + |
| лецитиназная активность | - | - | - | - | - | - | - |
| аргининдегидролаза | - | - | - | - | - | - | - |
| редукция нитратов до нитритов | + | + | + | + | + | + | + |
| Рост на МПА в присутствии NaCl | | | | | | | |
| 2 % | + | + | + | + | + | + | + |
| 5 % | + | + | + | + | + | + | + |
| 7 % | + | + | + | + | + | + | + |
| 10 % | - | - | - | - | - | - | - |
| Рост на МПА при pH | | | | | | | |
| 6,0 | + | + | + | + | + | + | + |
| 7,0 | + | + | + | + | + | + | + |
| 8,0 | н | + | + | + | + | + | + |
| 9,0 | н | - | - | + | - | + | + |
| Рост при температуре культивирования | | | | | | | |
| 5 °С | d | - | - | - | - | - | - |
| 10°С | d | - | - | - | - | - | - |
| 20°С | + | + | + | + | + | + | + |
| 30°С | + | + | + | + | + | + | + |
| 40°С | d | + | + | + | + | + | + |

Примечание – «+» - положительный результат,
«-» - отрицательный результат,
«d» - вариабельный результат,
«н» - данные отсутствуют,
«v» - варьирует в пределах рода.

Таблица 2

Сводная таблица с информацией по выделению и биологической идентификации бактерий

Bacillus megaterium

| Характеристика | Данные об основных свойствах бактерий по «Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria» <i>Bacillus megaterium</i> | <i>Bacillus megaterium</i> 182 | <i>Bacillus megaterium</i> И9 | Результаты исследований 58 штаммов, выделенных в экспериментах | | |
|---|--|--------------------------------|-------------------------------|--|----|----|
| | | | | + | - | ± |
| пигментация | - | - | - | 6 | 52 | |
| подвижность | + | + | + | 58 | | |
| окраска по Граму | Гр+ | Гр+ | Гр+ | 58 | | |
| форма спор -эллипсоидная -цилиндрическая | + | эллипсоидная цилиндрическая | | | | |
| каталаза | + | + | + | 51 | | 7 |
| рост в анаэробных условиях | + | + | + | 22 | 36 | |
| рост в аэробных условиях | + | + | + | 58 | | |
| Ферментация | | | | | | |
| L-арабинозы | + | + | + | | | |
| D-глюкозы | + | + | + | 53 | 4 | 1 |
| гликогена | + | + | + | | | |
| D-маннитола | + | + | + | | | |
| D-маннозы | - | - | - | | | |
| салицина | + | + | + | | | |
| D-ксилозы | + | + | + | | | |
| галактозы | + | + | + | | | |
| лактозы | + | + | + | 3 | 22 | 33 |
| мальтозы | + | + | + | 30 | 24 | 4 |
| раффинозы | + | + | + | | | |
| рамнозы | - | - | - | | | |
| рибозы | + | + | + | | | |
| сорбитола | d | - | - | 46 | 4 | 8 |
| L-ксилозы | - | - | - | | | |
| Гидролиз | | | | | | |
| казеина | + | + | + | 29 | 27 | 2 |
| крахмала | + | + | + | 29 | 27 | 2 |
| мочевины | - | - | - | | | |
| Иные биохимические свойства | | | | | | |
| цитрата | + | + | + | 52 | 3 | 3 |
| гемолитическая активность | н | - | - | | | |
| желатиная активность | + | + | + | 45 | 13 | |
| лецитиназная активность | - | - | - | | | |
| аргининдегидролаза | - | - | - | | | |
| редукция нитратов до нитритов | + | + | + | 50 | 1 | 8 |
| Рост на МПА в присутствии NaCl | | | | | | |
| 2 % | + | + | + | 58 | | |
| 5 % | + | + | + | 58 | | |
| 7 % | + | + | + | 57 | 1 | |
| 10 % | - | - | - | - | | |
| Рост на МПА при pH | | | | | | |
| 6,0 | + | + | + | | | |
| 7,0 | + | + | + | | | |
| 8,0 | н | + | + | | | |
| 9,0 | н | - | - | | | |
| Рост при температуре культивирования | | | | | | |
| 5 °С | d | - | - | 17 | 29 | 12 |
| 10°С | d | - | - | 29 | 29 | |
| 20°С | + | + | + | 58 | | |
| 30°С | + | + | + | 58 | | |
| 40°С | d | + | + | 57 | 1 | |

Примечание – «+» - положительный результат,
«-» - отрицательный результат,
«d» - варибельный результат,
« » - данные отсутствуют.

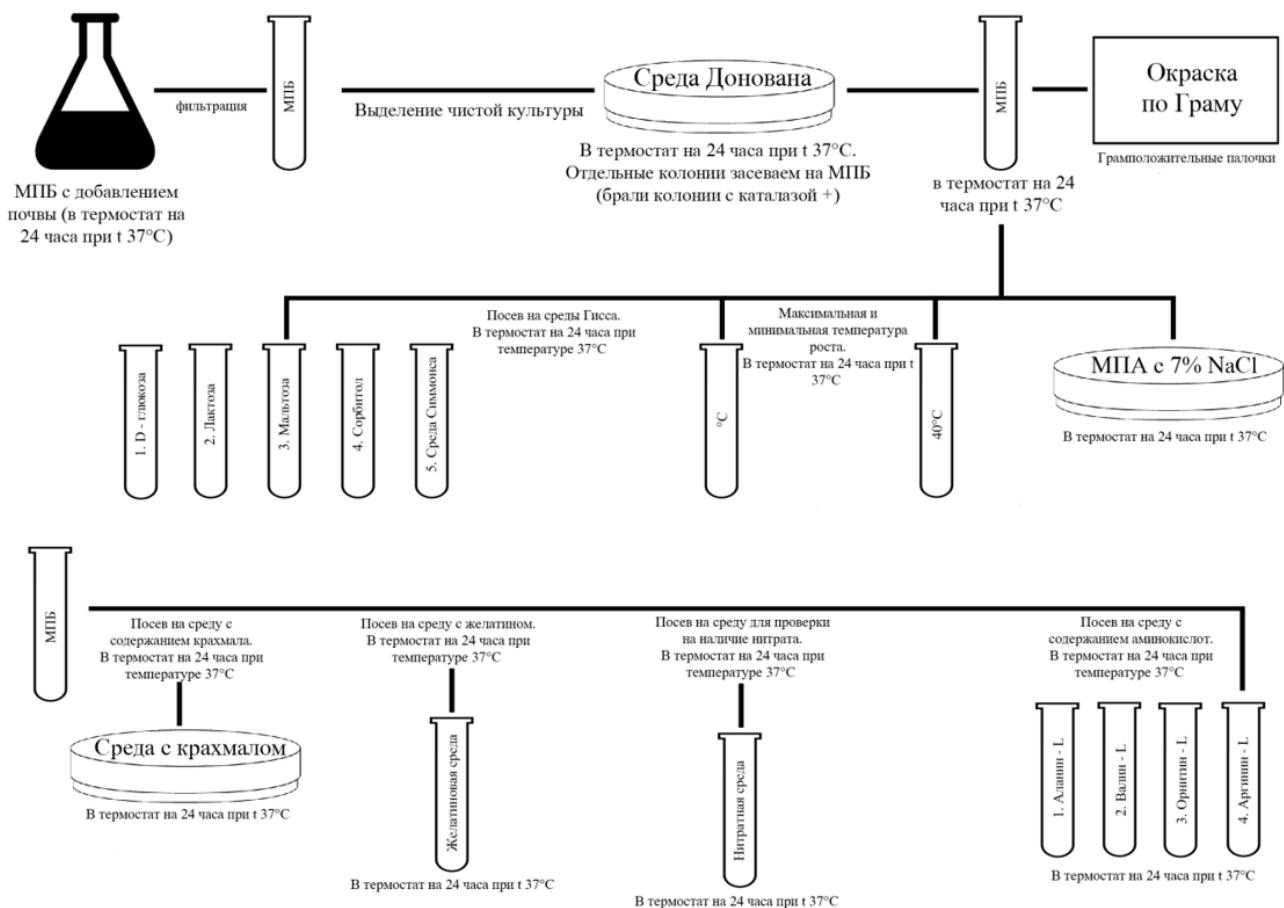


Рис. 1 – Схема выделения и идентификация бактерий *Bacillus megaterium*

ральных и биохимических свойств бактерий *Bacillus megaterium* использовали стандартные бактериологические методы. Полученные данные сравнивали с данными о фенотипических свойствах штаммов бактерий вида *Bacillus megaterium*, описанными в «*Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*» (2015).

Результаты исследований

Были проведены скрининговое исследование штаммов изучаемых микроорганизмов из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ Ульяновского ГАУ для создания схемы выделения и их биологической идентификации. Результаты исследований приведены в сравнении с характерными фенотипическими свойствами исследуемых видов, описанными в «*Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*» (2015). Результаты исследования штаммов *Bacillus megaterium* приведены в таблице 1.

Для выделения новых штаммов микроорганизмов было отобрано 210 проб почвы. Первичная идентификация позволила изолировать 58 штаммов бактерий рода *Bacillus*. Дальнейшая работа проводилась по разработанной схе-

ме бактериологической идентификации *Bacillus megaterium* (рис. 1). Результаты исследований представлены в таблице 2.

При микроскопии окрашенных по Граму мазков установили, что часть культур в мазках имеет форму мелких грамположительных палочек, при этом 16 культур визуально по размеру клеток отличались и были гораздо крупнее.

Для изучения продуктивности роста бактерий на солевом агаре, засекали культуры на ранее приготовленный агар с добавлением 2, 5, 7 и 10% NaCl и инкубировали при температуре 37°C 24 часа. Установлено, что при добавлении 7% NaCl в МПА рост бактерий наблюдался у 57 штаммов из 58, а при 10% NaCl рост отсутствовал у всех штаммов.

Определялись минимальная и максимальная температуры роста вегетативных форм, при этом засеянные культурами пробирки термостатировали при температуре 5,10, 20,30 и 40°C в течении 24 часов. Результаты культивирования проб при минимальной и максимальной температурах представлены в таблицах 1 и 2.

Определение биохимических свойств исследуемых микроорганизмов показало, что

большая часть штаммов образует каталазу и ферментирует углеводы. Результаты представлены в таблицах 1 и 2.

Гидролиз крахмала определяли на картофельном агаре. После инкубации культур при температуре 37°C 24 чашки Петри заливали раствором Люголя. Светлые участки вокруг колоний свидетельствовали о гидролизе крахмала. Результаты представлены в таблицах 1-2.

Желатиназную активность определяли на среде с добавлением желатина.

Для определения способности изучаемых штаммов к редукции нитратов до нитритов засеивали суточные культуры в жидкую питательную среду с содержанием нитрата.

Уже после инкубации при температуре 37°C 24 часа проверяли, смешивая 1 мл культуры с 3 каплями раствора: (I) сульфаниловые кислоты, 0.8 г; 5 N уксусная кислота (ледяная уксусная кислота и вода 1:2.5), 100 мл; (II) этан-α-нафтиламин, 0.6 мл; уксусная кислота, 100 мл. Красный или желтый (высокая концентрация) цвет указывает на присутствие нитрита. Данные представлены в таблицах 1-2.

Полученные результаты исследований по изучению биологических свойств выделенных нами бактерий в основном не расходятся с паспортными данными эталонных штаммов *Bacillus megaterium* 182 и *Bacillus megaterium* И9, учитывая полиморфизм биохимических свойств бацилл.

Из 58 штаммов бактерий рода *Bacillus*, выделенных из объектов окружающей среды, 16 отнесены нами к виду *Bacillus megaterium*.

Процент контаминации проб почвы бактериями вида *Bacillus megaterium* составил 7,6 %.

Обсуждение

Регулярное применение используемых в настоящее время удобрений требует больших затрат, которые не могут быть предоставлены хозяйствами и фермерами развивающихся стран. От 90% до 95% макроэлементов, образующихся в почве, присутствуют в нерастворимых формах, недоступных для сельскохозяйственных культур [16]. Таким образом, микробиологи и почвоведы несут ответственность перед обществом за поиск путей и средств обеспечения доступности азота, фосфора и калия для сельскохозяйственных культур. В большинстве типов почв наблюдается дефицит доступных для растений элементов питания, в связи с этим существует интерес к использованию ризосферно-компетентных бактерий, наделенных способностью растворять минеральные компоненты для мо-

билизации макроэлементов из плохо доступных источников в почве [22]. Хотя потенциал для разработки таких модификаторов явно существует, их широкое применение остается ограниченным из-за плохого понимания микробной экологии и динамики популяций в почве, а также из-за непостоянной эффективности в различных средах. Кроме того, стимулирование роста растений, важное с агрономической точки зрения как следствие микробной инокуляции, обязательно может быть связано с характеристиками, которые проявляются в лабораторных условиях. Кроме того, для обеспечения продовольственной безопасности в развивающихся странах существует острая необходимость в устойчивой интенсификации систем сельскохозяйственного производства для поддержки урожайности зерновых и получения доходов. В этом контексте новые штаммы модификаторов для почвы региона и технологии для их окончательного переноса на поля должны быть разработаны, испытаны и переданы фермерам. В настоящем исследовании выделены из образцов почвы 16 новых штаммов бактерии *B. megaterium*, изучены биологические свойства и проведена видовая идентификация 22 штаммов *B. megaterium*. Сформированная коллекция будет являться объектом исследования на последующих этапах работы по разработке биокомпозиции на основе бактерий для повышения коэффициента усвоения минеральных компонентов удобрений.

Заключение

Проведены скрининговые исследования созданной нами ранее коллекции бактериальных штаммов *Bacillus megaterium* из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ Ульяновского ГАУ. Разработана оптимальная схема выделения и идентификации бактерий *Bacillus megaterium*. Подтверждена видовая принадлежность 6 штаммов *B. megaterium*. Результаты исследований приведены в сравнении с характерными фенотипическими свойствами исследуемого вида, описанного в «*Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*» (2015).

Исследовано 210 образцов почвы, полученных из всех районов Ульяновской области для выделения новых штаммов микроорганизмов исследуемого вида. Всего из отобранных образцов почвы выделено 16 штаммов - *Bacillus megaterium*, что составляет 7,6 % контаминации.

В результате проведенных исследований была расширена коллекция бактериальных штаммов изучаемых микроорганизмов, опре-

делена их таксономическая принадлежность. Полученная коллекция будет являться объектом исследования на последующих этапах работы по разработке биокомпозиции на основе бактерий для повышения коэффициента усвоения минеральных компонентов удобрений.

Библиографический список

1. Bary, A. Vergleichende morphologie und biologie der pilze, mycetozoen und bacterien / A. Bary. – Wilhelm Engelmann, 1884. - 220 p.
2. Tóth, G. Phosphorus levels in croplands of the European Union with implications for P fertilizer use / G. Tóth, et al. //European Journal of Agronomy. – 2014. – Т. 55. – С. 42-52.
3. Nikolay, V. Solubilization of animal bonechar by a filamentous fungus employed in solid state fermentation / V. Nikolay, et al. // Ecological engineering. – 2013. – Т. 58. – С. 165-169.
4. Xiao, C. Q. Optimization for rock phosphate solubilization by phosphate-solubilizing fungi isolated from phosphate mines/ C. Q. Xiao, et al // Ecological Engineering. – 2008. – Т. 33. – №. 2. – С. 187-193.
5. Wang, X. Q. Application and mechanisms of *Bacillus subtilis* in biological control of plant disease/ X. Q. Wang, et al. //Role of rhizospheric microbes in soil. – Springer, Singapore, 2018. – С. 225-250.
6. Bakhshandeh, E. Evaluation of phosphate-solubilizing bacteria on the growth and grain yield of rice (*Oryza sativa* L.) cropped in northern Iran / E. Bakhshandeh et al. //Journal of applied microbiology. – 2015. – Т. 119. – №. 5. – С. 1371-1382.
7. Lidbury, I. D. E. A. Comparative genomic, proteomic and exoproteomic analyses of three *Pseudomonas* strains reveals novel insights into the phosphorus scavenging capabilities of soil bacteria / I. D. E. A. Lidbury, et al. //Environmental microbiology. – 2016. – Т. 18. – №. 10. – С. 3535-3549.
8. Nosheen, A. *Pseudomonas putida* improved soil enzyme activity and growth of kasumbha under low input of mineral fertilizers/ A. Nosheen, et al. // Soil Science and Plant Nutrition. – 2018. – Т. 64. – №. 4. – С. 520-525.
9. Nosratabad, A. R. F. Integrated use of organic fertilizer and bacterial inoculant improves phosphorus use efficiency in wheat (*Triticum aestivum* L.) fertilized with triple superphosphate / A. R. F. Nosratabad, H. Etesami, S. Shariati // Rhizosphere. – 2017. – Т. 3. – С. 109-111.
10. Hien, N. T. Field application strategies for the inoculant biofertilizer BioGro supplementing fertilizer nitrogen application in rice production / N. T. Hien, et al. //Journal of Plant Nutrition. – 2014. – Т. 37. – №. 11. – С. 1837-1858.
11. Saha, M. Identification and characterization of potassium solubilizing bacteria (KSB) from Indo-Gangetic Plains of India / M. Saha //Biocatalysis and agricultural biotechnology. – 2016. – Т. 7. – С. 202-209.
12. Brown, M. R. Growth and sporulation characteristics of *Bacillus megaterium* under different conditions of nutrient limitation / M. R. Brown, N. A. Hodges //Journal of Pharmacy and Pharmacology. – 1974. – Т. 26. – №. 4. – С. 217-227.
13. Bai, B. Study on the Characteristics of Straw Fermentation by *Bacillus megaterium* MYB3 / B. Bai, C. G. Yan, G. C. Li //Earth and Environmental Science. – 2017. – Т. 81. – №. 1. – С. 1-7.
14. Zhong, C. Studies on the acid-production characteristics of *Bacillus megaterium* strain P17 / C. Zhong et al. //AIP Conference Proceedings. – AIP Publishing LLC, 2017. – Т. 1839. – №. 1. – С. 020054.
15. Zhu, J. Comparative study on the biodegradation of chlorpyrifos-methyl by *Bacillus megaterium* CM-Z19 and *Pseudomonas syringae* CM-Z6/ J. Zhu, Y. Zhao., H. Ruan //Anais da Academia Brasileira de Ciências. – 2019. – Т. 91. – №. 3.
16. Hamed, S. A. Promotion of growth, yield and fiber quality attributes of Egyptian cotton by bacillus strains in combination with mineral fertilizers / S. A. Hamed et al. //Journal of Plant Nutrition. – 2019. – Т. 42. – №. 18. – С. 2337-2348.
17. Patel, G. Isolation, biochemical characterization and production of biofertilizer from *Bacillus megaterium* / G. Patel et al. // Int. J. Life. Sci. Scienti. Res. – 2016. – Т. 2. – №. 6. – С. 749-752.
18. Quynh, T. M. A beads-based biofertilizer containing *Bacillus megaterium* for cabbage / T. M. Quynh. et al. // Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering. – 2019. – Т. 61. – №. 4. – С. 53-57.
19. Baikar, V. Characterization of polyhydroxyalkanoate produced by *Bacillus megaterium* VB89 isolated from Nisargruna biogas plant / V. Baikar, A. Rane, R. Deopurkar //Applied biochemistry and biotechnology. – 2017. – Т. 183. – №. 1. – С. 241-253.
20. Borah D., More S., Yadav R. N. S. Construction of double chambered microbial fuel cell (MFC) using household materials and *Bacillus megaterium* isolate from tea garden soil //Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences. – 2019. – Т. 2019. – С. 84-86.

21. Thakur, D. Phosphate solubilising microorganisms: role in phosphorus nutrition of crop plants-a review / D.Thakur, R. Kaushal, V.Shyam //Agricultural Reviews. – 2014. – T. 35. – №. 3. – С. 159-171.

22. Walpola, B. C. Prospectus of phosphate

solubilizing microorganisms and phosphorus availability in agricultural soils: A review / B. C. Walpola, M. H. Yoon //African Journal of Microbiology Research. – 2012. – T. 6. – №. 37. – С. 6600-6605.

ISOLATION OF NEW STRAINS OF BACILLUS MEGATERIUM BACTERIA AND STUDY OF THEIR BIOLOGICAL PROPERTIES

Suldina E. V., Feoktistova N. A., Bogdanov I. I.
FSBEI HE Ulyanovsk SAU

432017, Ulyanovsk, Novy Venets boulevard, 1; tel. 8(8422) 49-55-63;
Email: e.suldina2006@yandex.ru

Key words: Bacillus megaterium, biological properties, isolation scheme, identification, species

Bacillus megaterium is a gram - positive rod-shaped endospore-forming bacteria. They are used as an effective soil modifier, having the ability to disperse phosphorus. In turn, phosphorus plays an important role in several physiological and biochemical processes of plants, such as photosynthesis, the conversion of sugar to starch, and the transfer of genetic traits. Based on the current state of research in the development of biofertilizers, it can be argued that the biocomposition of Bacillus megaterium bacteria will lead to an increase in the availability of a number of macronutrients for plants – the main elements of nutrition. This article presents the results of screening studies of previously created collection of bacterial strains of Bacillus megaterium from the Museum of the Department of microbiology, virology, epizootology and VSE of Ulyanovsk SAU. The developed scheme of isolation and identification of Bacillus megaterium bacteria is given. The species identity of 6 strains of B. megaterium was confirmed. The results of the research are compared with the characteristic phenotypic properties of the studied species described in "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology" (2015). 210 soil samples were taken to isolate new strains of microorganisms. Initial identification allowed us to isolate 58 strains of bacteria of the genus Bacillus, 16 were assigned to Bacillus megaterium. The percentage of contamination of soil samples of this type of bacteria was 7.6 %. As the result of research, the collection of bacterial strains of studied microorganisms was expanded and their taxonomic affiliation was determined. The resulting collection will be the object of research at the following stages of work on the development of biocomposition based on bacteria to increase the coefficient of absorption of mineral components of fertilizers.

Bibliography

1. Bary, A. Vergleichende morphologie und biologie der pilze, mycetozen und bacterien / A. Bary. – Wilhelm Engelmann, 1884. – 220 p.
2. Tóth, G. Phosphorus levels in croplands of the European Union with implications for P fertilizer use / G. Tóth, et al. //European Journal of Agronomy. – 2014. – T. 55. – С. 42-52.
3. Nikolay, V. Solubilization of animal bonechar by a filamentous fungus employed in solid state fermentation / V. Nikolay, et al. // Ecological engineering. – 2013. – T. 58. – С. 165-169.
4. Xiao, C. Q. Optimization for rock phosphate solubilization by phosphate-solubilizing fungi isolated from phosphate mines/ C. Q. Xiao, et al // Ecological Engineering. – 2008. – T. 33. – №. 2. – С. 187-193.
5. Wang, X. Q. Application and mechanisms of Bacillus subtilis in biological control of plant disease/ X. Q. Wang, et al. //Role of rhizospheric microbes in soil. – Springer, Singapore, 2018. – С. 225-250.
6. Bakhshandeh, E. Evaluation of phosphate-solubilizing bacteria on the growth and grain yield of rice (Oryza sativa L.) cropped in northern Iran / E. Bakhshandeh et al. //Journal of applied microbiology. – 2015. – T. 119. – №. 5. – С. 1371-1382.
7. Lidbury, I. D. E. A. Comparative genomic, proteomic and exoproteomic analyses of three Pseudomonas strains reveals novel insights into the phosphorus scavenging capabilities of soil bacteria / I. D. E. A. Lidbury, et al. //Environmental microbiology. – 2016. – T. 18. – №. 10. – С. 3535-3549.
8. Nosheen, A. Pseudomonas putida improved soil enzyme activity and growth of kasumbha under low input of mineral fertilizers/ A. Nosheen, et al. //Soil Science and Plant Nutrition. – 2018. – T. 64. – №. 4. – С. 520-525.
9. Nosratabad, A. R. F. Integrated use of organic fertilizer and bacterial inoculant improves phosphorus use efficiency in wheat (Triticum aestivum L.) fertilized with triple superphosphate / A. R. F. Nosratabad, H. Etesami, S. Shariati // Rhizosphere. – 2017. – T. 3. – С. 109-111.
10. Hien, N. T. Field application strategies for the inoculant biofertilizer BioGro supplementing fertilizer nitrogen application in rice production / N. T. Hien, et al. //Journal of Plant Nutrition. – 2014. – T. 37. – №. 11. – С. 1837-1858.
11. Saha, M. Identification and characterization of potassium solubilizing bacteria (KSB) from Indo-Gangetic Plains of India / M. Saha //Biocatalysis and agricultural biotechnology. – 2016. – T. 7. – С. 202-209.
12. Brown, M. R. Growth and sporulation characteristics of Bacillus megaterium under different conditions of nutrient limitation / M. R. Brown, N. A. Hodges //Journal of Pharmacy and Pharmacology. – 1974. – T. 26. – №. 4. – С. 217-227.
13. Bai, B. Study on the Characteristics of Straw Fermentation by Bacillus megaterium MYB3 / B. Bai, C. G. Yan, G. C. Li //Earth and Environmental Science. – 2017. – T. 81. – №. 1. – С. 1-7.
14. Zhong, C. Studies on the acid-production characteristics of Bacillus megaterium strain P17 / C. Zhong et al. //AIP Conference Proceedings. – AIP Publishing LLC, 2017. – T. 1839. – №. 1. – С. 020054.
15. Zhu, J. Comparative study on the biodegradation of chlorpyrifos-methyl by Bacillus megaterium CM-Z19 and Pseudomonas syringae CM-Z6 / J. Zhu, Y. Zhao., H. Ruan //Anais da Academia Brasileira de Ciências. – 2019. – T. 91. – №. 3.
16. Hamed, S. A. Promotion of growth, yield and fiber quality attributes of Egyptian cotton by bacillus strains in combination with mineral fertilizers / S. A. Hamed et al. //Journal of Plant Nutrition. – 2019. – T. 42. – №. 18. – С. 2337-2348.
17. Patel, G. Isolation, biochemical characterization and production of biofertilizer from Bacillus megaterium / G. Patel et al. // Int. J. Life. Sci. Scienti. Res. – 2016. – T. 2. – №. 6. – С. 749-752.
18. Quynh, T. M. A beads-based biofertilizer containing Bacillus megaterium for cabbage / T. M. Quynh. et al. // Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering. – 2019. – T. 61. – №. 4. – С. 53-57.
19. Baikor, V. Characterization of polyhydroxyalkanoate produced by Bacillus megaterium VB89 isolated from Nisargruna biogas plant / V. Baikor, A. Rane, R. Deopurkar //Applied biochemistry and biotechnology. – 2017. – T. 183. – №. 1. – С. 241-253.
20. Borah D., More S., Yadav R. N. S. Construction of double chambered microbial fuel cell (MFC) using household materials and Bacillus megaterium isolate from tea garden soil //Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences. – 2019. – T. 2019. – С. 84-86.
21. Thakur, D. Phosphate solubilising microorganisms: role in phosphorus nutrition of crop plants-a review / D.Thakur, R. Kaushal, V.Shyam // Agricultural Reviews. – 2014. – T. 35. – №. 3. – С. 159-171.
22. Walpola, B. C. Prospectus of phosphate solubilizing microorganisms and phosphorus availability in agricultural soils: A review / B. C. Walpola, M. H. Yoon //African Journal of Microbiology Research. – 2012. – T. 6. – №. 37. – С. 6600-6605.