

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **043452**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.05.25

(21) Номер заявки
202190860

(22) Дата подачи заявки
2021.03.25

(51) Int. Cl. *C12N 1/20* (2006.01)
C12N 11/14 (2006.01)
A01N 63/20 (2006.01)
C12Q 1/689 (2006.01)
C09K 17/00 (2006.01)
C09K 101/00 (2006.01)

(54) **КОМПЛЕКСНЫЙ ПРЕПАРАТ ДЛЯ СНИЖЕНИЯ СОЛЕВОГО СТРЕССА РАСТЕНИЙ НА ОСНОВЕ КОНСОРЦИУМА ГАЛОФИЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ, ИММОБИЛИЗОВАННЫХ В ПОРИСТОЙ СТРУКТУРЕ ДИАТОМИТА**

(43) **2022.09.30**

(96) **KZ2021/011 (KZ) 2021.03.25**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**АВТОНОМНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ
ОБРАЗОВАНИЯ "НАЗАРБАЕВ
УНИВЕРСИТЕТ" (KZ)**

(72) Изобретатель:
**Гаджимурадова Айсарат Махмудовна,
Алсар Жанна Толегенкызы,
Мырзабаева Малика Толендикызы
(KZ), Инсепов Зинетула Алпысович
(US)**

(74) Представитель:
Суюндуков М.Ж. (KZ)

(56) **US-B1-6311426**

ORHAN F.: Alleviation of salt stress by halotolerant and halophilic plant growthpromoting bacteria in wheat (*Triticum aestivum*). *Braz J Microbiol* [онлайн] 19.04.2016 [найдено 2021-12-08], Найдено в интернет: <doi:10.1016/j.bjm.2016.04.001, сс. 1-7

МАТЫЧЕНКОВ И.В.: Взаимное влияние кремниевых, фосфорных и азотных удобрений в системе почва-растение. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Москва [онлайн] 2014 [найдено 2021-12-08], Найдено онлайн: <URL: <http://soil.msu.ru/attachments/article/1897//Диссертация%20матыченков.pdf>> сс. 1-14

(57) Изобретение относится к микробиологии, биотехнологии и сельскому хозяйству, а именно к производству и применению препаратов для снижения солевого стресса растений на основе консорциума галофильных бактерий, иммобилизованных в пористой структуре диатомита. Задачей предлагаемого изобретения является разработка комплексного препарата на основе диатомита, значительно уменьшающего солевой стресс растений при добавлении их в засоленную почву. Техническим результатом является повышенная адаптация растений к соленой почве как за счет симбиоза корневой системы с галофильными микроорганизмами, так и за счет положительного влияния диатомита на ионообменные, водонакопительные, структурные и другие свойства почвы; решение проблемы засоления почв, снижение уровня их деградации, уменьшение уровня вторичного засоления, повышение количества и разнообразия растений, возделываемых на засоленных почвах. Технический результат достигается за счет того, что на основе казахстанского диатомита и консорциума галофильных бактерий, выделенных из корней нативных галофитов засоленных почв центрального и южного Казахстана, предлагается комплексный препарат галофильных бактерий, иммобилизованных на диатомите.

B1**043452****043452 B1**

Изобретение относится к микробиологии, биотехнологии и сельскому хозяйству, а именно к производству и применению препаратов для снижения солевого стресса растений на основе консорциума галофильных бактерий, иммобилизованных в пористой структуре диатомита.

Избыточное скопление в корнеобитаемом слое почвы легкорастворимых солей угнетает или губит сельскохозяйственные растения, снижает качество и количество урожая. По данным ФАО (Продовольственная и сельскохозяйственная организация ООН), засоленные почвы занимают в мире огромные площади - около 25% всей поверхности суши.

Площадь засоленных почв в Казахстане (в том числе, солонцеватых, щелочных почв в сочетании с другими почвами) составляет 111,55 млн гектаров или 41% от всей территории страны. Засоленные площади в основном расположены на юге страны. По данным за 2019 г. общая площадь орошаемых земель составила 1,5 млн га, из которых подвержены засолению составили 41% или 615,0 тыс. га.

Большинство сельскохозяйственных культур чувствительны к засолению, вызванному высокой концентрацией солей в почве, и площадь земли, подверженной солевому стрессу, увеличивается день ото дня. Накопление соли в почве характеризуется содержанием большого количества растворимых солей Ca, Mg, K, Na, Cl, SO₄, CO₃ и т.д. Увеличение содержания растворимых солей в почве напрямую влияет на производство сельскохозяйственных культур за счет изменения пропорции обменных катионов, реакции почвы, физических свойств и осмотического эффекта, а также специфической ионной токсичности. Высокий осмотический потенциал почвы приводит как к снижению роста растений, так и к низкой микробной активности почвы из-за осмотического стресса и накопления большого количества токсичных ионов внутри клеток, что приводит к гибели большинства бактерий и грибов, необходимых для нормального функционирования всей экосистемы.

Некоторые микроорганизмы, за счет устойчивости к засолению, генетического разнообразия, синтеза совместимых растворенных веществ, производства гормонов, способствующих росту растений, потенциала биоконтроля и их взаимодействия с сельскохозяйственными растениями способны оказывать положительное воздействие на рост и развитие растений в сильнозасоленных почвах.

В последнее десятилетие в сельском хозяйстве активно применяются галофильные бактерии для снижения осмотического стресса растений. Так, например, в исследованиях Sanjay Aroga (Индия) при обработке семян пшеницы и кукурузы галофильными бактериями в условиях 6% засоления (NaCl) показано увеличение характеристик урожая и урожайности пшеницы на 10-12%. Однако монокультуры не показали положительного воздействия на рост пшеницы и кукурузы. Консорциум галофильных бактерий увеличивал биомассу кукурузы при 6% засолении на 194,5%, увеличение длины побега на 15,37 см [2]. Ризосферные бактерии и грибы, могут улучшать работу растений в условиях стресса и, следовательно, повышать урожай как прямо, так и косвенно. Некоторые ризобактерии, способствующие росту растений, могут оказывать прямое воздействие на рост и развитие растений, обеспечивая растения фиксированным азотом, фитогормонами, железом, которое секвестрируется бактериальными сидерофорами, и растворимым фосфатом.

Однако при внесении бактериальных препаратов в полевых условиях агрономы сталкиваются с определенными проблемами, так как активность почвенных бактерий напрямую зависит от целого ряда факторов: реакция почвы (pH), уровень содержания минеральных и органических компонентов, содержание микроэлементов, влажность почвы, температура, применение пестицидов и фунгицидов и т.д.

Так, например, применение азотфиксирующих бактерий нецелесообразно в кислых почвах с pH ниже 4,0, а недостаток фосфорного питания негативно сказывается на бактериализации бобовых культур.

Для снижения негативных факторов среды и повышения эффективности действия бактерий в основе многих современных препаратов применяются "носители" для бактерий. В ряде исследований применяли диатомит в качестве активатора микробной активности почвы, где была отмечена активизация аммонифицирующих бактерий и ингибирование амилотической активности почвенных бактерий. Под влиянием диатомита отмечалась относительная стабильность аммонифицирующей части микробного сообщества в почве и увеличение микробной биомассы.

Диатомовая земля (DE) была использована в исследовании для защиты бактерий от высокой pH среды в смеси бетона. Экспериментальные результаты показали, что DE имел очень хороший защитный эффект для бактерий. DE-иммобилизованные бактерии обладали значительно более высокой уреолитической активностью (12-17 г/л мочевины был разложен в течение 3 дней), чем у не иммобилизованных бактерий (менее 1 г/л мочевины разложилось внутри тот же промежуток времени) в цементном растворе.

Таким образом, из представленного обзора видно, что засоление земель - это актуальная экологическая проблема, создающая серьезные препятствия для развития сельскохозяйственного растениеводства. Существует ряд исследований, показывающий принципиальную возможность применения различных микроорганизмов, в том числе галофильных, для улучшения роста и урожайности некоторых растений. Однако прямое внесение бактериальных культур в почву осложняется рядом факторов внешней среды, в связи с чем, возникает необходимость "носителя" микробных культур, который не только будет служить целям переноса микроорганизмов, но и способствовать их жизнедеятельности и выживанию в агрессивной соленой почвенной среде. Есть относительно небольшое число работ, посвященных использованию пористого минерала диатомита для иммобилизации бактериальных клеток,

но пока существует аналогов предлагаемого в данной работе экологичного и экономичного препарата на основе диатомита и иммобилизованного на нем консорциума галофильных (солеустойких) бактерий, выделенных из природных солончаков Казахстана, для значительного уменьшения солевого стресса растений.

Известные на сегодняшний день аналоги предлагаемого изобретения, представлены ниже.

Аналогом изобретения (патент RU 2528058 C1, опубл. 04.06.2013) является "Штамм бактерий *Bacillus amyloliquefaciens*, обладающий фунгицидным и бактерицидным действием, и биологический препарат на его основе для защиты зерновых растений от заболеваний, вызываемых фитопатогенными грибами", который относится к биохимии. В данном изобретении в качестве носителя для бактерий используется диатомит. Так, биологический препарат получают путём смешивания активного начала в виде культуральной жидкости штамма *Bacillus amyloliquefaciens* с титром $2-3 \times 10^9$ КОЕ/мл и носителя в виде мелкодисперсных гранул диатомита в соотношении по объёму 1:3 с последующим высушиванием. Изобретение позволяет повысить урожайность зерновых культур и уменьшить процент заражённости фитопатогенными грибами. Отличие данного препарата от предлагаемого авторами изобретения заключается в том, что этот препарат используется в качестве инсектицида и не предназначен для целей борьбы с солевым стрессом растений в засоленных почвах.

Известен способ изготовления биологически активной кормовой добавки для животных и птиц (патент RU 2663014 C1) который заключается в предварительном обжиге кремнийсодержащего материала при температуре 600-700°C. Затем на обожженный кремнийсодержащий материал распыляют бактерии, после чего на полученный продукт наносят растительные добавки. Далее обработанные гранулы кремнийсодержащего материала перемешивают в течение 15-20 мин в грануляторе при частоте оборотов от 30 до 40 Гц при наклоне чаши от 40 до 50° до момента исчезновения комочков и влажных зон. После этого гранулы просушивают при температуре от 15 до 25°C, распределив их тонким слоем на ровной сухой и чистой поверхности. При этом в качестве кремнийсодержащего материала используют крошку диатомита, в качестве бактерий - *Bacillus subtilis* и *Bacillus licheniformis*, а в качестве растительной добавки - смесь эфирных масел.

Недостатком данного изобретения отличается является довольно энергозатратная процедура изготовления, особенно при использовании в промышленных масштабах. Кроме того, препарат применяется в животноводстве.

Исследователи из США изучали галофильные бактерии, выделенные из ризосферы корневой системы растений *Salicornia rubra*, *Sarcocornia utahensis* и *Allenrolfea occidentalis* - трех нативных галофитов штата Юта. Изоляты были протестированы на максимальную солеустойчивость, и некоторые из них могли расти в присутствии до 4 М NaCl. Изучена способность изолятов *Halomonas* и *Bacillus* стимулировать рост люцерны в физиологических условиях и показано, что эти изоляты при использовании для инокуляции молодых проростков люцерны стимулируют рост растений в присутствии 1% NaCl, уровня, который значительно ингибирует рост неинокулированных растений.

Недостатком изобретения является то, что несмотря на использование галофильных бактерий для повышения солеустойчивости растений, в данной работе не применяется диатомит, что значительно усложняет процесс практического использования исследования.

Прототипом предлагаемого авторами изобретения может являться "Биохимические композиции удобрений на основе диатомовой земли" (патент US 6311426 B1, опубл. 06.11.2001). В данной композиции прокаленная диатомовая земля используется в качестве компонента, который предварительно нагревается до высоких температур, например от 1500 до 2100°F, предпочтительно от 1700 до 1900°F и более предпочтительно около 1800°F (982°C). Объясняется это тем, что диатомовая земля, прокаленная при более низкой температуре, не обладает уникальной внутренней пористостью. Дополнительным компонентом может быть любой полезный микроорганизм или комбинация организмов, которые, как известно, повышают качество почвы для роста растений. Например, *Bacillus*, *Clostridium*, *Clostridium pasteurianum*, *Rhodopseudomonas*, *Rhodopseudomonas capsula* и *Rhizobium*, *Bacillus megaterium*, *Azotobacter vinelandii*; *Pseudomonas fluorescens*, *Anthrobacter globii*, *Flavobacterium* sp., *Saccharomyces cerevisiae* и т.д., к полученной смеси добавляют по меньшей мере одно азотсодержащее соединение в виде соли аммония или замещенное аминсодержащее соединение, такое как безводный аммиак, водный аммиак, соли аммония, аммиачная селитра, кальциевая аммиачная селитра, фосфат аммония, сульфат аммония и аммоний, сульфат нитрат, мочевины, полифосфаты аммония, мочевины, мочевины продукт реакции формальдегида и тому подобное.

Недостатком изобретения является то, что в данном изобретении применяется как кальцинация, так и бактериальный компонент, однако обжиг диатомита, особенно при высоких температурах, способствует его сильной дегидратации, в результате чего повышаются его антибактериальные свойства за счет адсорбции бактериальных клеток, их обезвоживания и разрушения. Кроме того, в изобретении не описано действие галофильных бактерий в ассоциации с диатомитом для повышения солевого стресса растений.

Таким образом, комплексное применение галофильных бактериальных клеток, выделенных из нативных галофитов Казахстана, и диатомита для уменьшения солевого стресса растений предлагается ав-

торами впервые. Предлагаемое изобретение помогает усилить эффект галофильных бактерий по снижению солевого стресса растений, заключающийся в их симбиозе с корневой системой растений, а также эффект диатомита по сорбционному, ионообменному, водонакопительному, структуроулучшающему и другим полезным воздействиям на засоленные почвы. Комплексный препарат диатомита и бактериальных клеток может обеспечить растения необходимыми неорганическими веществами, дополнительной влагой, снизить стрессовую нагрузку от засоления за счет симбиоза растение+почвенный микробиом. Кроме того, за счет иммобилизации клеток бактерий в пористую структуру диатомита, заполненную растворенными в воде солями, можно получить экономически рентабельный препарат с пролонгированным действием, до 3-5 лет, при его непосредственном внесении в почву.

Задачей предлагаемого изобретения является разработка комплексного препарата на основе диатомита значительно уменьшающего солевой стресс растений при добавлении их в засоленную почву.

Техническим результатом является повышенная адаптация растений к соленой почве как за счет симбиоза корневой системы с галофильными микроорганизмами, так и за счет положительного влияния диатомита на ионообменные, водонакопительные, структурные и другие свойства почвы; решение проблемы засоления почв, снижение уровня их деградации, уменьшение уровня вторичного засоления, повышение количества и разнообразия растений, возделываемых на засоленных почвах.

Технический результат достигается за счет того, что на основе казахстанского диатомита и консорциума галофильных бактерий, выделенных из корней нативных галофитов засоленных почв центрального и южного Казахстана, предлагается комплексный препарат галофильных бактерий иммобилизованных на диатомите, который состоит из следующих стадий:

1) Подготовка диатомита.

Природный диатомит Жалпакского месторождения Актюбинской области предварительно измельчается до размеров 2-3 мм, промывается проточной водой для удаления глины, песка и других примесей, высушивается при комнатной температуре и измельчается до субмиллиметровых размеров. Диатомит, подготовленный таким образом, сохраняет в своем составе адсорбционную воду и растворенные соли.

Снимки, сделанные на электронном микроскопе, показывают пористую структуру диатомита.

2) Создание консорциума галофильных бактерий, выделенных из корней нативных галофитов засоленных участков почв в Аральском регионе и в Карагандинской области, обладающих повышенной солеустойчивостью и жизнеспособностью.

Для выделения галофильных бактерий отбираются образцы засоленной почвы (1 г) с участком корня галофита с корневыми волосками. Образцы переносятся в фальконы с питательной средой (Сабуро, Чапек, Луриа-Бертани), содержащей 200, 300, 400, 500 мМ NaCl. Культивирование проводят в течение 24-48 ч в термостате при температуре от 24-37°C. Далее полученную накопительную культуру разводят по методу Коха и высевают на агаризованную среду для получения колоний микроорганизмов. После получения чистой культуры бактерии повторно высеваются на питательную среду с хлоридом натрия в тех же концентрациях и далее проводят генетическую идентификацию полученных штаммов. Методом секвенирования и масс-спектрометрического анализа было идентифицировано 3 штамма бактерий с высокой степенью солеустойчивости до 500 мМ хлоридного засоления - *Bacillus szezeyi* (из почвы), *Enterococcus durans faecium* (из ризосферы).

3) Создание комплексного препарата для защиты сельскохозяйственных растений от различного типа засоления почв.

Заявляемый препарат состоит из частиц диатомита (DE) субмиллиметрового размера и иммобилизованного на этих частицах консорциума галофильных бактерий (НВ) с титром 2 - 3×10⁹ КОЕ/мл и менее. Отношение объема НВ (мл) к массе DE (мг) берётся от 1:100 до 1:10000.

Изобретение поясняется следующими фигурами, на которых изображено:

фиг. 1 - схема иммобилизация бактериальных клеток в пористой структуре диатомита;

фиг. 2 - снимки электронной микроскопии образцов диатомита с иммобилизованными бактериями, после 16 ч сушки на воздухе соотношение галофильных бактерий (НВ) (мл) к массе диатомита (DE) (мг) А - 1:100, Б - 5:1000, В - 2,5:1000;

фиг. 3 - длина побегов растений пшеницы в контрольном и опытных вариантах (НВ - галофильные бактерии, DE - диатомит);

фиг. 4 - накопление биомассы растений пшеницы в контрольном и опытных вариантах (НВ - галофильные бактерии, DE - диатомит).

Пример выполнения.

Для лучшего понимания механизма взаимодействия галофильных бактерий (НВ) с диатомитом (DE) и процесса иммобилизации НВ в порах DE были сделаны снимки образцов бактериальных клеток, образцов диатомита и образцов диатомита с иммобилизованными в его порах бактериями методом сканирующей электронной микроскопии (SEM), как показано на фиг. 1.

Как видно из схемы на фиг. 1, бактериальные клетки галофильных бактерий *Bacillus szezeyi* легко встраиваются в поры диатомита, так как диаметр пор составляет в среднем 1,5-2 мкм, а поперечные размеры бактериальных клеток гораздо меньше и составляют не более 600-700 нм. Продольные размеры клеток гораздо больше, до 3-10 мкм, поэтому клетки как бы опутывают поры диатомита, т.е. встраивают-

ся или иммобилизуются в пористую структуру диатомита.

Результаты эксперимента показали, что диатомит поддерживает жизнедеятельность бактерий не только в растворе бактериальной среды, но и после отделения диатомита с иммобилизованными бактериями от раствора. Отделенный от раствора диатомит с иммобилизованными бактериями сушили на воздухе в течение 16 ч, а затем делали снимки подсушенных образцов методом электронной микроскопии. На фиг. 2, на которой снимки электронной микроскопии образцов диатомита с иммобилизованными бактериями после 16 ч сушки на воздухе. Соотношение галофильных бактерий (НВ) (мл) к массе диатомита (DE) (мг) А - 1:100, Б - 5:1000, В - 2,5:1000.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что бактерии успешно иммобилизуются на диатомите в различных соотношениях, как в более разбавленном 1:2, 1:4, так и в концентрированном состоянии и после 16 ч высушивания сохраняют свою жизнеспособность в порах диатомита. При более высоких концентрациях бактериальной среды бактерии покрывают поверхность диатомита плотными слоями (фиг. 2А), при разбавлении бактериальной среды плотность распределения бактерий на поверхности и в порах диатомита также уменьшается (фиг. 2В), в наиболее разбавленном растворе отчетливо наблюдается проникновение бактерий в пористую структуру диатомита. Тот факт, что бактериальные клетки сохраняют свою жизнеспособность в порах диатомита после 16 ч высушивания на воздухе, свидетельствует о большом потенциале природного диатомита в качестве носителя галофильных бактерий, так как его высокая объемная пористость позволяет ему быть источником воды с растворенными в ней солями в течение длительного времени.

Следующим этапом исследований была апробация полученного препарата диатомит-НВ в условиях внесения его в соленую почву в целях уменьшения солевого стресса растений.

Приготовленный комплексный препарат диатомита с иммобилизованными бактериальными клетками применяли при выращивании пшеницы (сорт Шортландинская 2012 с низкой устойчивостью к солевому стрессу) в условиях хлоридного засоления. Препарат вносили в почву согласно следующей схеме:

(CTR) - контрольная почва без внесения препарата и соли;

(DE) - почва с внесенным диатомитом (1:10000);

(НВ) - бактериальная культура

(DE+НВ) - почва с внесенным в нее препаратом диатомита с иммобилизованными галофильными бактериями (1 мл НВ:100 мг DE). Соотношение препарата DE+НВ к почве соответствует 1:10000.

Все образцы почв поливали солевыми растворами с содержанием хлорида натрия в концентрации 100, 300 и 500 мМ. Для определения влияния комплексного препарата DE+НВ на рост и развитие растений пшеницы, измеряли длину побегов и уровень накопления биомассы (фиг. 3).

Показатели длины побега при применении диатомита и диатомита с бактериальной культурой примерно одинаковы при концентрации соли 100 мМ, однако при 500 мМ засоления вариант диатомита в ассоциации с галофильными бактериями на 21% выше, чем в варианте без использования бактерий. Данный показатель доказывает, что ассоциация диатомита и бактерий в условиях 500 мМ засоления оказывает положительное влияние на длину побегов, которая является основным показателем при накоплении биомассы и фотосинтетической активности.

Также измеряли свежий вес побегов и корней растений пшеницы (фиг. 4) Для подтверждения иммобилизации выделенных НВ на диатомите были подготовлены бактериальные культуры и измерены показатели их жизнедеятельности в течение нескольких дней как без диатомита, так и в его присутствии. Результаты измерений представлены в таблице.

Таблица. Показатели плотности и жизнедеятельности галофильных бактерий при добавлении в среду природного диатомита

Время, ч	Бактериальная культура без диатомита		Бактериальная культура с диатомитом в соотношении НВ (мл) к массе DE (мг) 2,5:1000	
	Плотность (OD600)	КОЕ/мл	Плотность (OD600)	КОЕ/мл
0	0,3	2,2*10 ⁷	0,4	2,1*10 ⁷
24	1,4	2,2*10 ⁸	0,3	1,7*10 ⁷
40	1,8	2,7*10 ⁹	0,2	1,7*10 ⁷
48	1,8	3,2*10 ⁹	0,2	1,8*10 ⁷
72	1,6	7*10 ⁸	0,2	1,8*10 ⁷

Как видно из данных табл. 1, при совместном культивировании диатомита и бактерий, природный пористый сорбент адсорбирует в своей структуре незначительное количество бактерий, что показывает снижение КОЕ в течение первых 24-40 ч. Однако после 40 ч за счет содержащихся в порах диатомита солей и адсорбционной воды, которые создают благоприятную среду для жизнедеятельности галофильных бактерий, рост бактерий восстанавливается и остается стабильным до 72 ч.

По показателям накопления биомассы можно утверждать, что диатомит благоприятно воздействует на рост пшеницы в условиях засоления, а при 100 мМ засоления еще и превышает показатель контрольного варианта на 10%. При ассоциации с галофильными бактериями при 500 мМ хлоридном засолении

показатель всего на 30% ниже, чем в контрольном варианте без засоления.

Таким образом, по указанным выше данным можно утверждать, что диатомит в сочетании с галофильными бактериями *Bacillus suezeyi*, *Enterococcus durans* и *faecium* оказывает положительное воздействие на рост пшеницы в условиях более чем 2%-ого хлоридного засоления, когда как негативное воздействие на рост и развитие растений оказывает засоление уже при 0,1-0,3%.

Галофильные микроорганизмы за счет устойчивости к засолению, генетического разнообразия, синтеза совместимых растворенных веществ, производства гормонов, способствующих росту растений, потенциала биоконтроля и их взаимодействия с сельскохозяйственными растениями способны оказывать положительное воздействие на рост и развитие растений в сильнозасоленных почвах.

Диатомит, в свою очередь, обладает сорбционными, водонакопительными, структуроулучшающими, разрыхляющими, ионообменными свойствами, которые улучшают состояние соленых почв. Комплексное применение консорциума галофильных бактерий и диатомита помогает усилить эффект бактерий по снижению солевого стресса растений за счет симбиоза с корневой системой растений, а также эффект диатомита по его полезному воздействию на засоленные почвы. Комплексный препарат диатомита и бактериальных клеток, по всей видимости, дает синергетический эффект двух его составляющих: обеспечивает растения необходимыми неорганическими веществами, дополнительной влагой, усиливает процессы ионного обмена в почве, снижает стрессовую нагрузку от засоления за счет симбиоза растение-почвенном и микробном. Кроме того, что немаловажно, за счет иммобилизации клеток бактерий в структуру диатомита, появляется возможность более точного дозирования и более удобного и экономичного внесения препарата в почву. Таким образом, можно получить экономически рентабельный препарат с пролонгированным действием при его непосредственном внесении в почву.

Данное изобретение будет востребовано в различных отраслях сельского хозяйства, растениеводства, биотехнологии, почвоведения, экологии, так как иммобилизация микробных клеток на таком химически инертном, и в то же время пористом и гигроскопичном природном носителе, как диатомит с доказанным положительным влиянием на почву, может стать отличным решением для доставки необходимых микробных ассоциаций в почву, снижая уровень отрицательных воздействий окружающей среды и способствуя, тем самым, более активному размножению и росту бактерий, усиливая эффективность многих бактериальных препаратов.

Изобретение будет востребовано в странах с развивающимся сельским хозяйством, где взят курс на органическое производство, со сниженным количеством применяемых химических агентов, в регионах с повышенным уровнем содержания солей в почве, для введения осолонцеватых почв в полезную площадь пахотных земель.

На рынке имеются изобретения (препараты, способы) применения диатомита в качестве носителя бактериальных культур в составе инсектицидных препаратов, удобрений, биологически активных добавках в сфере животноводства и птицеводства. Однако применение его с ассоциацией с консорциумом галофильных бактерий не освещено в научной литературе, несмотря на то, что проблема засоления сейчас актуальна повсеместно.

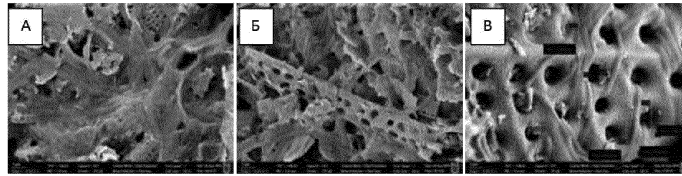
Данный способ иммобилизации будет востребован агрофирмами, частными и государственными аграрными корпорациями, фермерскими хозяйствами и т.д.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

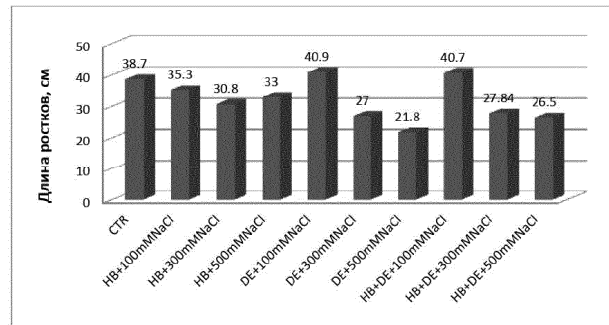
Комплексный препарат на основе консорциума галофильных бактерий, иммобилизованных в пористой структуре диатомита для снижения солевого стресса растений, выращиваемых на засоленных почвах, отличающийся тем, что препарат содержит галофильные бактерии *Bacillus suezeyi*, *Enterococcus durans* и *Enterococcus faecium*, сохраняющие жизнеспособность при хлоридном засолении почвы до 500 мМ, которые выделены из засоленных участков почвы и ризосферы нативных галофитов, с общим титром от $1,8 \times 10^7$ КОЕ/мл до 3×10^9 КОЕ/мл, и диатомит, предварительно измельченный до размера 2-3 мм, промытый для удаления примесей и измельченный до субмиллиметрового размера.



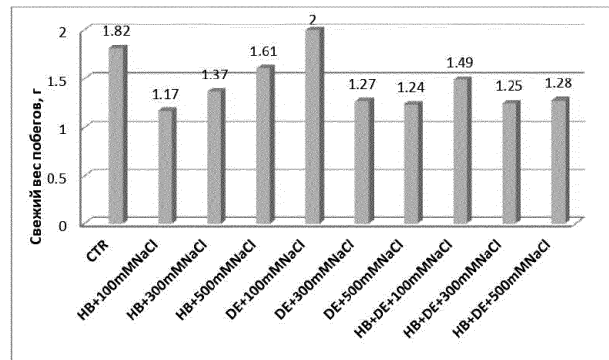
Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4