

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **045504**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.11.29

(21) Номер заявки
202391553

(22) Дата подачи заявки
2021.11.15

(51) Int. Cl. **C12N 1/20** (2006.01)
B09C 1/10 (2006.01)
A01N 63/20 (2020.01)
C12R 1/01 (2006.01)

(54) **ШТАММ БАКТЕРИЙ RHODOCOCCLUS QINGSHENGII - ДЕСТРУКТОР
ИМАЗЕТАПИРА И СТИМУЛЯТОР РОСТА РАСТЕНИЙ**

(31) **2020139179**

(32) **2020.11.27**

(33) **RU**

(43) **2023.07.20**

(86) **PCT/RU2021/050376**

(87) **WO 2022/115002 2022.06.02**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ
ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ "ОРГАНИК
ПАРК" (RU)**

(72) Изобретатель:
**Муратова Анна Юрьевна, Турковская
Ольга Викторовна (RU)**

(74) Представитель:
Гильманов Э.И. (RU)

(56) **CN-B-107699523
RU-C1-2618096
RU-C1-2562156**

(57) Изобретение относится к области сельскохозяйственной микробиологии, экологии и биотехнологии, предназначено для восстановления почвы от загрязнения гербицидами класса имидазолинонов и стимуляции роста высаженных растений. Штамм бактерий *Rhodococcus qingshengii*, депонированный под номером ВКПМ Ас-2143, выделен из накопительной культуры на основе ризосферной микрофлоры сои, выращенной на почве, обработанной гербицидом имазетапиром. Штамм *Rhodococcus qingshengii*, депонированный под номером ВКПМ Ас-2143, является деструктором гербицида имазетапира и стимулятором роста растений, выращенных в загрязненной имазетапиром почве.

B1

045504

045504

B1

Область техники

Изобретение относится к области сельскохозяйственной микробиологии, экологии и биотехнологии, предназначено для восстановления почвы от загрязнения гербицидами класса имидазолинонов, стимуляции роста высаженных растений и представляет собой штамм бактерий *Rhodococcus qingshengii*, депонированный под номером ВКПМ Ас-2143.

Развитие современного сельскохозяйственного земледелия невозможно без применения удобрений и химических средств защиты растений - пестицидов, среди которых максимальная доля приходится на гербицидные препараты. В процессе использования гербициды попадают в почву, где время их полураспада зависит от большого количества факторов: химической спецификации вещества, типа и физико-химических свойств почвы, климатических и географических особенностей сельскохозяйственных территорий. Многие гербициды (как например, имидазолиноны) крайне медленно разрушаются в почве, и микробная деградация подобных стойких соединений может быть единственным способом восстановления почвенного здоровья и обеспечения урожайности новых посевов.

Предшествующий уровень техники

Из современного уровня развития науки и техники известен биопрепарат, обладающий свойством деструкции пестицидов на примере симазина и стимулирующий почвенное плодородие. Основу биопрепарата-биодеструктора составляет консорциум молочнокислых бактерий *Streptococcus thermophilus*, *Streptococcus bovis*, *Lactobacillus salivarius* var. *salicinicus*, *Lactobacillus salivarius* var. *salivarius*, *Lactobacillus acidophilus* (ВКПМ-5972), растительные полисахариды, микроэлементы в виде комплексонатов, ненасыщенные жирные кислоты - предшественники простогландинов (Пат. РФ № 2203870; Пат. РФ № 2203879).

Однако указанная микробная композиция не способна к разложению гербицидов классов имидазолинонов и не способна стимулировать рост растений.

Описан биопрепарат для очистки воды, почвы, промышленных стоков от устойчивых к разложению пестицидов, выбранных из хлорфеноксиуксусных кислот, таких как 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4-Д), трихлорфеноксиуксусная кислота (2,4,5-Т), хлорфеноксиуксусная кислота (ХФУК), феноксиуксусная кислота (ФУК), 2,4-дихлорфенокси- α -пропионовой кислоты, 2-метил-4-хлорфенокси- α -пропионовой кислоты, 2,4,5-трихлорфенокси- α -пропионовой кислоты, 2,4-дихлорфенокси- α -масляной кислоты, метил-[1-(бутиламино)карбонил]-1Н-бензимидазол-2-илкарбамата, 2,4-дихлорфенола, имидаклоприда, гексахлоргексана, а также фенола (Пат. РФ № 2484131). Биопрепарат представляет собой ассоциацию штаммов бактерий *Pseudomonas putida* ВКПМ В-10997, *Bacillus subtilis* ВКПМ В-10999 и *Rhodococcus erythropolis* ВКПМ - Ас-1882 в массовом соотношении (1-2):(1-2):1. Биопрепарат содержит дополнительно сорбент, органические, минеральные и стимулирующие добавки и обладает стимулирующей рост растений активностью и фунгицидными свойствами.

Указанный биопрепарат обладает стимулирующим рост растений действием, но не способен подвергать деградации гербициды класса имидазолинонов.

Известен штамм бактерий *Bacillus megaterium* 501, который может использоваться для деструкции остаточных количеств фосфорорганических пестицидов в природных средах (А.с. СССР №1735359). Однако указанный микроорганизм не проявляет стимулирующей рост растений активности.

Известен штамм бактерий *Rhodococcus wratislaviensis* ВКМ Ас-2623D, для очистки почв, загрязненных гексахлорбензолом, линданом, дихлордифенилтрихлорэтаном, дихлордифенилдихлорэтаном, триаллатом и эфирами фталиевой кислоты (дибутилфталатом, диоктилфталатом) (Пат. РФ № 2562156).

Недостатком этого изобретения является отсутствие способности у штамма *Rhodococcus wratislaviensis* ВКМ Ас-2623D подвергать деградации гербициды группы имидазолинонов.

Известен штамм бактерий *Achromobacter* sp. ВКМ В-2534 Д, используемый для очистки почв и жидких сред, например, грунтовых и поверхностных вод, загрязненных органофосфонатами (Пат. РФ № 2401298). Штамм бактерий *Achromobacter* sp. Кг 16 был выделен методом накопительных культур из почвы, загрязненной глифосатом, депонирован во Всероссийской коллекции микроорганизмов под номером ВКМ В-2534 Д. Штамм утилизирует органофосфонаты: глифосат, метилфосфонат, аминометилфосфонат, фосфоноацетат, 2-аминоэтилфосфонат, N-(фосфометил)иминодиацетат. Показана устойчивость штамма к высоким концентрациям гербицида глифосата, что расширяет диапазон его применения, в том числе в аварийных ситуациях.

Указанный штамм *Achromobacter* sp. ВКМ В-2534 подвергает деградации гербициды класса органофосфонатов, но не имидазолиноны и не способен стимулировать рост растений.

Наиболее близким к предлагаемому микроорганизму по способности к биодegradации имазетапира является штамм бактерий *Pseudomonas* sp. IM-4 (Huang et al., 2009). Данный штамм утилизирует более 73% имазетапира, присутствующего в качестве единственного источника углерода и энергии в концентрации 50 мг/л в жидкой минеральной среде, а также способен разрушать этот гербицид в почве на 67,6% за 25 дней при исходной концентрации имазетапира в почве 10 мг/кг. Однако сведения о наличии у этого штамма признаков, позволяющих стимулировать рост растений (например, синтез фитогормонов, сидерофоров и других фитоактивных веществ), а также данные о стимуляции роста таких злаковых культур

как пшеница или рожь, отсутствуют.

Раскрытие изобретения

Задачей, на решение которой направлено заявляемое техническое решение, является получение микробного штамма, подвергающегося деградации имазетапир - гербицид класса имидазолинонов - и обладающего свойствами стимулятора роста растений.

Технический результат, который может быть получен при использовании заявляемого изобретения, заключается в повышении биodeградации гербицида имазетапира и стимуляции роста растений на почве, содержащей его остаточные концентрации.

Штамм IMZT-32 был исследован на наличие свойств, прямо или косвенно способствующих росту растений: синтез фитогормона индолил-3-усускной кислоты (ИУК), фиксация атмосферного азота, растворение фосфатов, синтез фермента 1-аминоциклопропан-1-карбоксилат (АЦК) деаминазы, синтез сидерофоров, стимуляция всхожести и развития проростков растений. Установлено, что IMZT-32 способен продуцировать сидерофоры, АЦК-деаминазу и фитогормон ИУК, стимулировать рост побегов и корней пшеницы мягкой (*Triticum aestivum* L.) и ржи озимой (*Secale cereale* L.) в лабораторных вегетационных опытах с 4-сут. проростками.

Штамм IMZT-32 был депонирован с регистрационным номером IBPPM 646 в Коллекции ризосферных микроорганизмов Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук, а затем в связи с расширением направлений фундаментальных и прикладных исследований этого штамма идентифицирован как вид *Rhodococcus qingshengii*, переименован в *Rhodococcus qingshengii* OPI-01 и депонирован во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов под номером Ac-2143.

Заявляемый штамм характеризуется следующими культурально-морфологическими, физиолого-биохимическими и биотехнологическими признаками.

Морфологические признаки: В мазках суточной культуры присутствуют короткие палочки неправильной формы, V-образной формы, с зачатками слабого ветвления. По Граму окрашиваются положительно. Спор не образуют. Неподвижные.

Культуральные признаки: Аэроб. Температурный оптимум 30°C. После инкубации на мясо-пептонном агаре через 2 сут. образует округлые, выпуклые колонии диаметром около 2 мм с блестящей поверхностью, непрозрачные, однородной структуры и густой маслянистой консистенции. Со временем колонии приобретают розоватый оттенок. Рост на скошенном мясо-пептонном агаре отчетливый по штриху на 2 сут.

Физиолого-биохимические признаки: Продуцирует каталазу, уреазу, но не оксидазу, лецитиназу, липазу, фенилаланилдеаминазу. Не гидролизует желатин и крахмал. При росте на мясо-пептоном бульоне образует сероводород, но не индол и аммиак. Флюоресцирующие и другие пигменты не образует. Осуществляет редукцию нитратов. Способен расти на среде в присутствии 2,5% NaCl. Утилизирует цитрат на среде Симмонса. В О/Ф-тесте окисляет ксилозу, мальтозу, но не лактозу и маннит.

Генетические характеристики: филогенетический анализ, основанный на сравнении нуклеотидных последовательностей гена 16SpPHK, показал, что штамм OPI-01 является представителем вида *Rhodococcus qingshengii*.

Биотехнологические признаки:

способность стимулировать рост растений, за счет продукции фито-гормона ИУК, фермента АЦК-деаминазы и сидерофоров. Синтезирует ПУК в концентрации 8-12 мкг/мл за 7 сут. культивирования в среде, содержащей предшественник фитогормона аминокислоту триптофан. Продукция ИУК штаммом определяется с использованием ВЭЖХ по появлению и накоплению фитогормона. Стимулирует рост побегов и корней пшеницы мягкой (*Triticum aestivum* L.) и ржи озимой (*Secale cereale* L.) в лабораторных вегетационных опытах с 4-сут. проростками.

способность подвергаться деградации гербицид имазетапир. Разрушает гербицид имазетапир в концентрации 50 мг/л за 7 сут. на 23% при культивировании в жидкой минеральной среде MSM. Активность, связанная с деградацией гербицида, определяется по убыли субстрата из среды культивирования. Остаточное содержание имазетапира определяется с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

В лабораторных условиях (не в коллекции) культуру хранят при 4°C на столбиках агаризованной (0,6%) среды LB (г): агар - 6; бактотриптон - 10; дрожжевой экстракт - 5; NaCl - 5; дистиллированная вода - 1 л; pH 7.0-7.2.

Штамм *Rhodococcus qingshengii* ВКПМ Ac-2143 авирулентен (Протокол экспериментального исследования по определению среднетелальной дозы (LD50) на белых мышках, проведенного 16.04.2019 г. - 29.04.2019 г. в лаборатории диагностических технологий отдела микробиологии отдела диагностики инфекционных болезней ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт "Микроб" Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия (ФКУЗ РосНИПЧИ "Микроб" Роспотребнадзора) и может быть использован для восстановления почвы от остаточного загрязнения гербицидными препаратами на основе имазетапира и для стимуляции роста растений на такой почве.

Вариант осуществления изобретения

Штамм бактерий *Rhodococcus qingshengii*, депонированный под номером ВКПМ Ас-2143, которому первоначально был присвоен лабораторный шифр IMZT-32, был выделен из накопительной культуры на основе микрофлоры ризосферы сои (*Glycine max* L.), выращенной на почве, обработанной гербицидным препаратом "Фабиан", действующим веществом которого является имазетапир. Для постановки накопительной культуры образцы корней растений с оставшейся закрепленной на них почвой (не более 2 мм) помещали в колбу с минеральной средой MSM (Huang X., Pan J.J., Liang B., Sun J.Q., Zhao Y.Y., Li S.P. Isolation, characterization of a strain capable of degrading imazethapyr and its use in degradation of the herbicide in soil // Curr. Microbiol. -2009. - Vol. 59. - P. 363-367.) следующего состава (г/л): NH_4NO_3 -1,0; K_2HPO_4 - 1,5; KH_2PO_4 - 0,5; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ -0,2; NaCl- 0,5. В качестве единственного источника углерода и энергии в среду добавляли имазетапир до конечной концентрации 50 мг/л. Колбы с накопительными культурами инкубировали на шейкере при 140 об/мин и 30°C в течение восьми недель, еженедельно заменяя среду в колбах на свежую. По окончании культивирования из накопительных культур были приготовлены десятикратные разведения, которые высевали на поверхность агаризованной среды MSM, содержащей 100 мг/л имазетапира в качестве единственного источника углерода и энергии. Посевы инкубировали в термостате при 30°C в течение 7 сут., после чего учитывали появившиеся колонии, отсеивая их для получения чистых культур. В дальнейшем все полученные таким образом изоляты проверяли на способность к деградации имазетапира, при культивировании их в жидкой среде MSM, содержащей гербицид в концентрации 50 или 100 мг/л в качестве единственного источника углерода и энергии. Штамм IMZT-32 отличался способностью подвергать деградации гербицид имазетапир на 23% за 7 сут. культивирования.

Промышленная применимость

Изобретение иллюстрируется следующими примерами.

Пример 1. Биodeградация имазетапира и близких по структуре метаболитов штаммом *Rhodococcus qingshengii* ВКПМ Ас-2143 при культивировании в жидкой минеральной среде.

Способность штамма *Rhodococcus qingshengii* ВКПМ Ас-2143 деградировать гербицид имазетапир и его возможные метаболиты исследовали, культивируя микроорганизм в жидкой минеральной среде MSM, содержащей в качестве единственного источника углерода и энергии имазетапир в концентрации 50 мг/л или один из метаболитов (2,3-пиридиндикарбоновую кислоту - ПДК или 2-гидроксиникотиновую кислоту - ГНК) в концентрации 200 мг/л.; pH среды 6,8-7,0. Посев микроорганизма в среду проводили до получения начальной плотности микробной суспензии 0,05 или 0,1 ед. опт. пл., измеренной при 600 нм. В качестве контроля использовали среду с имазетапиrom или метаболитами без бактерий. Все варианты опыта имели трехкратную повторность. Культивирование проводили 7 дней в условиях аэрации на качалке при 150 об./мин., 30°C. В конце эксперимента в среде после культивирования определяли остаточное содержание имазетапира, ПДК и ГНК методом ВЭЖХ (табл. 1).

Таблица 1

Биodeградация имазетапира и близких метаболитов - гидроксиникотиновой и пиридиндикарбоновой кислот - в качестве единственных источников углерода и энергии в среде MSM штаммом *Rhodococcus qingshengii* ВКПМ Ас-2143

Вариант опыта	имазетапир, мг/л	ГНК, мг/л	ПДК, мг/л
Контроль (без микроорганизма)	52,5±1,9	219,4±11,6	203,6±4,1
<i>Rhodococcus qingshengii</i> ВКПМ Ас-2143	40,6±5,6	202,1±6,3	166,3±8,3

Анализ остаточного содержания гербицида и близких по химической структуре метаболитов в среде после культивирования в течение 7 сут. и в контрольном варианте без микроорганизма показал, что имазетапир разрушался штаммом *Rhodococcus qingshengii* ВКПМ Ас-2143 на 22,7%, ПДК – на 18,3%, а ГНК-на 6,9%.

Полученные данные свидетельствовали о способности штамма *Rhodococcus qingshengii* ВКПМ Ас-2143 подвергать деградации имазетапир и близкие к нему по химической структуре метаболиты, используя их в качестве единственного источника углерода и энергии.

Пример 2. Влияние штамма *Rhodococcus qingshengii* ВКПМ Ас-2143 на рост и развитие растений пшеницы мягкой в почве, искусственно загрязненной имазетапиrom.

Почву в эксперименте искусственно загрязняли гербицидным препаратом "Виадук ВК" (ДВ: имазетапир, 100 г/л), внося препарат с водой для полива в дозировке, согласно инструкции, до конечной концентрации по имазетапиру 10 мг/кг почвы. Почву увлажняли до 50% от полной влагоемкости. Семена пшеницы мягкой (*Triticum aestivum* L.) сорта "Фаворит" по 20 шт. высевали в 1-л вегетационные сосуды, содержащие 1 кг почвы. Для стимуляции роста растений после появления всходов почву дважды - на 5 и

21 дни культивирования - обрабатывали бактериями, внося микробную суспензию с водой для полива до конечной концентрации микроорганизма-инокулянта в почве - 10^7 кл./г. Для приготовления суспензии 3-суточную LB-агаровую культуру штамма отмывали в фосфатном (pH 7.2) буфере и ресуспендировали в воде для полива растений. Эксперимент проводили в контролируемых условиях: при температуре 24/20°C, световом режиме 14/10 ч (освещенность - 8000 люкс) соответственно день/ночь, поддерживая влажность почвы на уровне 50% от полной влагоемкости поливом отстоянной водопроводной водой, необходимость которого определяли взвешиванием сосудов. Продолжительность эксперимента составляла 47 сут. По окончании эксперимента растения извлекали из сосудов, корни отмывали от почвы проточной водой. Высушивали фильтровальной бумагой, измеряли длину корней и побегов, отделяли их и высушивали до постоянного веса при 65°C. Образцы почвы (5 г) отбирали и высушивали до воздушно-сухого состояния перед анализом на гербицид. Содержание имазетапира в почве определяли как описано ранее (Assalin M.R., Queiroz S.C.N., Ferracini V.L., Oliveira T., Vilhena E., Mattos M.L.T. A method for determination of imazapic and imazethapyr residues in soil using an ultrasonic assisted extraction and LC-MS/MS // Bull. Environ. Contam. Toxicol. - 2014. - Vol. 93. - P. 360-364) с использованием ВЭЖХ.

В свежезагрязненной имазетапиром почве наблюдалось сильное угнетение роста растений пшеницы: за 25 сут. вегетации практически все растения в варианте без бактериализации так и остались на стадии проростков. Из необработанной и обработанной микроорганизмом почвы отобрали растения и сравнили их по морфометрическим показателям (фиг. 1 и 2). У бактеризованных растений длина побегов и корней была на 61 и 38%, а прирост биомассы - на 17 и 9% больше по сравнению с небактеризованными соответственно. Таким образом, и в этом варианте опыта штамм *Rhodococcus qingshengii* ВКПМ Ас-2143 проявил способность к стимуляции роста растений.

Анализ содержания имазетапира в почве проводили перед посевом растений (исходная точка) и в конце опыта. Результаты представлены в табл. 2.

Таблица 2

Изменение содержания имазетапира в почве в лабораторном эксперименте

Вариант опыта	Содержание имазетапира, мг/кг	Деградация, %
Исходная загрязненная почва	6,17	
Не бактеризованная почва, без растений	5,87	4,9
Не бактеризованная почва, с пшеницей	5,90	4,3
Бактеризованная почва, без растений	5,36	13,1
Бактеризованная почва, с пшеницей	5,78	5,7

Примечание. ОДК в почве для имазетапира 0,1 мг/кг

Таким образом, предложенный штамм бактерий обладает свойствами деградировать гербицид имазетапир и стимулировать рост растений, выращиваемых в загрязненной им почве. Сочетание указанных свойств может обеспечить как биодеградацию загрязнителя в грунте, так и приживаемость и стимуляцию роста высаженных в загрязненную почву растений.

Пример 3. Влияние штамма *Rhodococcus qingshengii* ВКПМ Ас-2143 на рост и развитие растений мягкой яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта "Симбирцит" в песке, искусственно загрязненном имазетапиром.

В качестве модельного гербицида использовали препарат "Пивот, ВК" (ДВ: имазетапир, 100 г/л). Растворы препарата вносили в следующих количествах (на г сухого кварцевого песка): 114×10^{-7} мл, $28,5 \times 10^{-7}$ мл. Расчет концентраций гербицида на единицу массы субстрата проводили, исходя из насыпной плотности кварцевого песка 1750 кг/м^3 и предполагаемой глубины проникновения пестицидов 20 см. Обработку песка клетками *Rhodococcus qingshengii* ВКПМ Ас-2143 проводили после внесения в грунт гербицида, из расчета 10^7 клеток/г песка. Суспензию клеток микроорганизма готовили в стерильном растворе Кнопа с микроэлементами и глицерином в качестве источника углерода и энергии в концентрации 3 г/л.

Перед закладкой опытов песок стерилизовали автоклавированием при давлении 1 атм. в течение 1 часа. Бактеризацию грунта проводили в двух вариантах: А - через 1 сут. после обработки грунта пестицидом, посев растений - через 14 сут., Б - через 5 сут. после добавления пестицида в песок, посев растений - через 21 сут. До высадки растений песок увлажняли стерильным раствором Кнопа с глицерином в концентрации 0,5 г/л, но без микроэлементов; после посева семян пшеницы - стерильным раствором Кнопа без глицерина и микроэлементов.

Перед посадкой семена растений стерилизовали с помощью 3% перекиси водорода с последующей десятикратной отмывкой стерильной дистиллированной водой.

Оценку роста растений проводили спустя 4 недели после их посадки. Об интенсивности роста судили на основании морфологических параметров (длины корней и побегов), а также проводили определение содержания белка в корнях и побегах растений по методу Лоури и определение содержания хлорофилла в листьях спектрофотометрическим методом.

При анализе влияния бактериализации на рост пшеницы сорта "Симбир-цит" установлено, что внесе-

ние в песок культуры *Rhodococcus qingshengii* ВКПМ Ас-2143 оказывает благоприятный эффект на рост и развитие растений в загрязнённом грунте (табл. 3, фиг. 3 и 4).

Таблица 3

Морфометрические и биохимические показатели растений пшеницы сорта Симбирцит при воздействии гербицида Пивот и бактеризации *Rhodococcus qingshengii* ВКПМ Ас-2143.

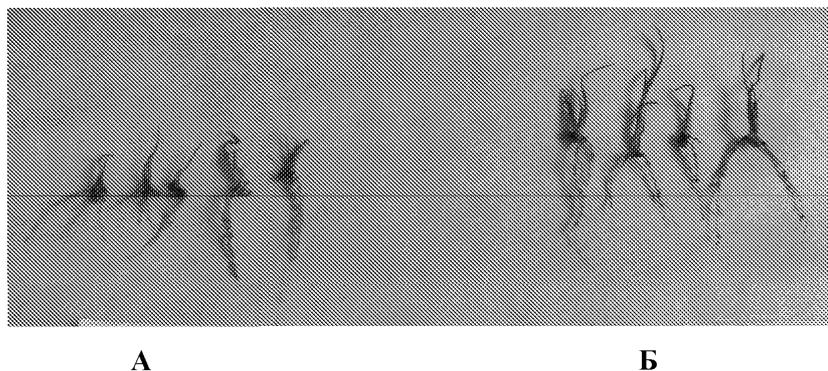
Обработка Параметр	Пивот, 0 мл/г		Пивот, $28,5 \times 10^{-7}$ мл/г		Пивот, 114×10^{-7} мл/г	
	Без м/о	Ас-2143	Без м/о	Ас-2143	Без м/о	Ас-2143
А. Внесение биопрепарата через 1 день после обработки песка гербицидом, посадка растений через 14 дней после внесения гербицида						
Длина, мм						
корень	121,5 ± 29,1	145 ± 33,4	47,0 ± 5,6	68,1 ± 20,2	35,4 ± 9,1	42,1 ± 11,3
побег	352,8 ± 67,4	350,6 ± 45,9	99,6 ± 37,4	217,1 ± 47,4	43,0 ± 17,7	119,6 ± 35,1
Белок, % от сухой массы						
корень	1,58 ± 0,11	1,34 ± 0,37	0,53 ± 0,19	1,29 ± 0,35	0,29 ± 0,03	1,27 ± 0,17
побег	0,42 ± 0,22	0,19 ± 0,06	0,3 ± 0,07	0,29 ± 0,05	0,18 ± 0,06	0,27 ± 0,09
Хлорофиллы, мкг/г						
<i>a</i>	838 ± 301	711 ± 257	597 ± 277	768 ± 192	267 ± 54	458 ± 116
<i>b</i>	387 ± 128	338 ± 107	239 ± 106	333 ± 85	107 ± 38	190 ± 43
общее содержание	1226 ± 428	1049 ± 363	836 ± 382	1101 ± 276	374 ± 92	647 ± 159
Б. Внесение биопрепарата через 5 дней после обработки песка гербицидом, посадка растений через 21 день после внесения гербицида						
Длина, мм						
корень	124,4 ± 17,9	120 ± 21,2	29,5 ± 9,1	54,1 ± 12,0	28,8 ± 5,5	42,8 ± 8,7
побег	340,1 ± 36,6	353,3 ± 26,5	56,4 ± 11,6	182,4 ± 25,4	31,5 ± 7,8	108,0 ± 22,1
Белок, % от сухой массы						
корень	1,26 ± 0,08	1,24 ± 0,08	0,62 ± 0,04	1,49 ± 0,10	0,49 ± 0,03	1,12 ± 0,15
побег	0,51 ± 0,07	0,41 ± 0,05	0,13 ± 0,01	0,28 ± 0,02	0,15 ± 0,03	0,26 ± 0,03
Хлорофиллы, мкг/г						
<i>a</i>	859 ± 112	572 ± 68	382 ± 15	574 ± 145	301 ± 37	376 ± 184
<i>b</i>	377 ± 34	284 ± 40	170 ± 36	286 ± 62	154 ± 17	169 ± 81
общее содержание	1236 ± 146	856 ± 108	552 ± 51	860 ± 207	455 ± 54	546 ± 265

Высев пшеницы в песок, предварительно обработанный штаммом *Rhodococcus qingshengii* ВКПМ Ас-2143, через 14 сут. после бактеризации приводил к формированию более развитых корней и побегов у растений пшеницы. Так, при концентрации препарата Пивот $28,5 \times 10^{-7}$ мл/г песка добавление микроорганизмов в песок приводило к удлинению корней в 1,5 раза (на 45%), при концентрации данного препарата 114×10^{-7} мл/г песка наблюдалось удлинение корней в 1,2 раза (на 19%). При этом в обоих случаях длина побегов увеличивалась более чем в 2 раза по сравнению с не бактеризованными вариантами. В то же время посев пшеницы через 21 день после бактеризации песка приводил к более выраженному эффекту микроорганизмов на прорастание растений. В данном случае при концентрациях пестицида $28,5 \times 10^{-7}$ мл/г песка и 114×10^{-7} мл/г песка отмечено увеличение длины корней в 1,8 раз (на 84%) и в 1,5 раз (на 49%), соответственно. Также в песке, обработанном микроорганизмами, отмечено увеличение длины формируемых побегов пшеницы более чем в 3 раза по сравнению с растениями, высевными в загрязнённый грунт без добавления *Rhodococcus qingshengii* ВКПМ Ас-2143.

Таким образом, показано, что штамм *Rhodococcus qingshengii* ВКПМ Ас-2143 оказывает положительное воздействие на морфологические и биохимические характеристики растений мягкой яровой пшеницы.

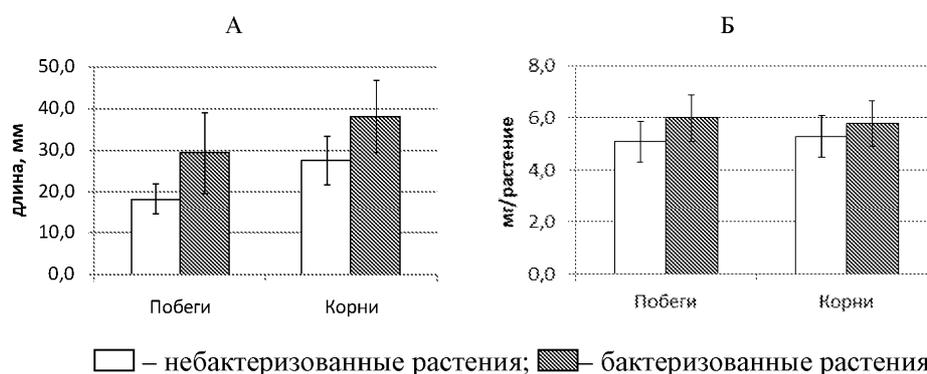
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Штамм бактерий *Rhodococcus qingshengii*, депонированный под номером ВКПМ Ас-2143, деструктор гербицида имазетапира и стимулятор роста растений, выращенных в загрязненной имазетапиром почве.



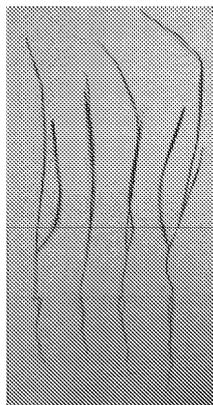
Растения пшеницы сорта «Фаворит» (26 сут.), выросшие в почве, загрязненной «Виадуксом» (имазетапиром), не обработанной (А) и обработанной *Rhodococcus qingshengii* ВКПМ Ас-2143 (Б).

Фиг. 1

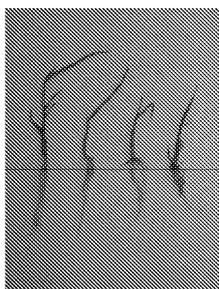


Влияние бактеризации штаммом *Rhodococcus qingshengii* ВКПМ Ас-2143 на рост пшеницы сорта «Фаворит» (А – длина корней и побегов; Б – масса корней и побегов) в почве, загрязненной «Виадуксом» (имазетапиром).

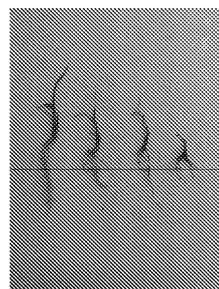
Фиг. 2



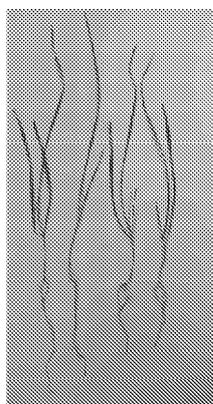
Контроль
(без обработки)



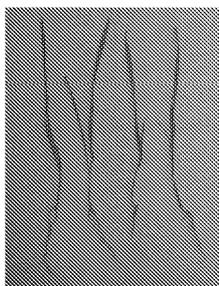
Пивот $28,5 \times 10^{-7}$ мл/г
песка



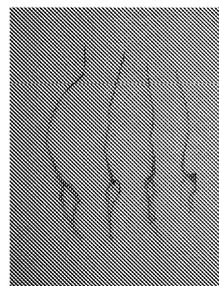
Пивот 114×10^{-7} мл/г
песка



Rhodococcus qingshengii
Ac-2143



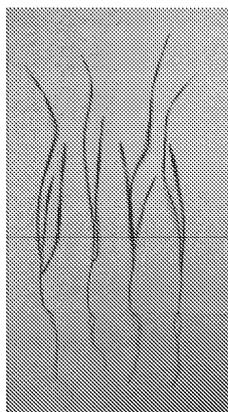
Пивот $28,5 \times 10^{-7}$ мл/г
песка + *Rhodococcus*
qingshengii Ac-2143



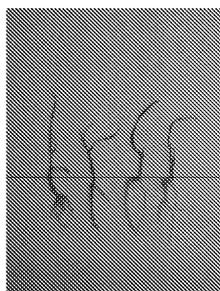
Пивот 114×10^{-7} мл/г
песка + *Rhodococcus*
qingshengii Ac-2143

Внешний вид растений пшеницы яровой (сорт «Симбирцит»), выращенных при различных условиях обработки песка гербицидом Пивот и клетками *Rhodococcus qingshengii* ВКПМ Ac-2143. Внесение биопрепарата через 1 сут., посадка растений через 14 сут. после обработки песка гербицидом. В качестве контроля использован чистый песок, не содержащий гербицидов и микроорганизмов.

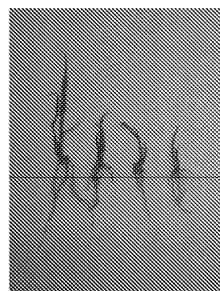
Фиг. 3



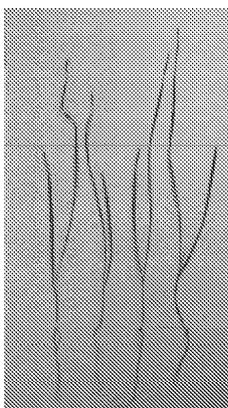
Контроль
(без обработки)



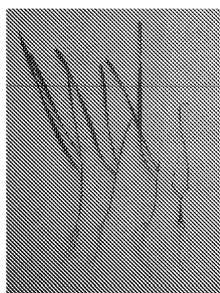
Пивот $28,5 \times 10^{-7}$ мл/г
песка



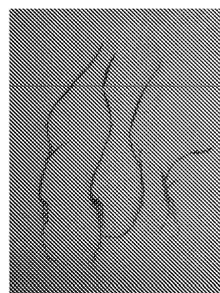
Пивот 114×10^{-7} мл/г
песка



Rhodococcus qingshengii
Ac-2143



Пивот $28,5 \times 10^{-7}$ мл/г
песка + *Rhodococcus*
qingshengii Ac-2143



Пивот 114×10^{-7} мл/г
песка + *Rhodococcus*
qingshengii Ac-2143

Внешний вид растений пшеницы яровой (сорт «Симбирцит»), выращенных при различных условиях обработки песка гербицидом Пивот и клетками *Rhodococcus qingshengii* ВКПМ Ac-2143. Внесение биопрепарата через 5 сут., посадка растений через 21 сут. после обработки песка гербицидом. В качестве контроля использован чистый песок, не содержащий гербицидов и микроорганизмов.

Фиг. 4

