

Н.К. Жаппар<sup>1</sup>, В.М. Шайхутдинов<sup>1</sup>, Л.Ж. Байрон<sup>1</sup>, Б.М. Мырзабаев<sup>1</sup>,  
К.А. Зейнелов<sup>1</sup>, А.К. Шибаева<sup>1</sup>, М.Ю. Ишмуратова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Филиал РГП «Национальный центр биотехнологии» КН МОН РК, Степногорск, Казахстан;  
<sup>2</sup>Карагандинский государственный университет им. Е.А. Букетова, Казахстан  
(E-mail: nariman\_zhappar@mail.ru)

## Выделение перспективных штаммов *Bacillus megaterium* и *Bacillus subtilis*, обладающих фосфатмобилизирующими и противомикробными свойствами

В статье представлены данные по выделению и изучению физиолого-биохимических свойств культур *Bacillus megaterium* и *Bacillus subtilis*. В качестве материалов для выделения культур использовались образцы черноземных почв пшеничных полей. Из образцов выделены 36 изолятов с противомикробными и 17 изолятов с фосфатмобилизирующими свойствами. Микроскопическое наблюдение этих изолятов показало, что они представляют собой грамположительные, палочковидные, эндоспорообразующие бактерии. Согласно культурально-морфологическим и физиолого-биохимическим признакам выделенные изоляты идентифицированы как *Bacillus subtilis* и *Bacillus megaterium*. Изучена эффективность фосфатмобилизации штаммов *Bacillus megaterium*. В результате из выделенных 17 изолятов 5 показали наибольшую солубилизирующую способность на твердой среде. Определена солубилизирующую способность на жидкой среде NBRIP, где содержание растворенного фосфора увеличилось в 4–7 раза, а pH культуральной жидкости у данных штаммов уменьшился с 7,0 до 5,1–5,4. Также проведены работы по изучению антагонистической активности выделенных штаммов *Bacillus subtilis* и *Bacillus megaterium* к 2 тест-штаммам: *Fusarium graminearum* и *Fusarium oxysporum*. На основании полученных данных отмечено, что штаммы *Bacillus megaterium* AA4, AA7, AA8, AA15 и AA17, а также *Bacillus subtilis* AS7, AS14, AS22, AS29 и AS34 обладают антагонистической активностью по отношению к *F. graminearum* и *F. oxysporum*. Таким образом, получены перспективные штаммы для биоконтроля фузариозных заболеваний.

**Ключевые слова:** микроорганизмы, изолят, штамм, фосфатмобилизирующая активность, антагонистическая активность, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*.

### Введение

В последние годы возрос интерес к изучению биологического контроля фитопатогенов с помощью полезных растительных микроорганизмов, особенно бактерий, о чем свидетельствует экспоненциальный рост мирового рынка биопестицидов с 800 млн долл. США в 2014 г. до 2,8 млрд долл. США на настоящее время [1]. Многие бактериальные роды, такие как *Paenibacillus*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Lysobacter* и *Bacillus*, были описаны как симбиотические микроорганизмы с биоконтролирующей способностью [2–4]. Эта группа микробов ингибирует развитие болезни, препятствуя образованию фитопатогенов, благодаря продуцированию внеклеточных ингибирующих молекул, таких как литические ферменты, токсины, сидерофоры, биосурфактанты и активации сигналов защиты растений [2, 5, 6]. Недавние работы свидетельствуют об успешном использовании бактерий для борьбы с грибковыми заболеваниями у нескольких экономически важных культур, например, кукурузы [7], фасоли обыкновенной [8], сои [9], при этом наблюдалось снижение тяжести заболевания (> 60 %) и улучшение фитосанитарного состояния растений.

В настоящее время в Казахстане для борьбы с патогенами зерновых культур преимущественно используются химические препараты на основе ципроконазола, имазалила, тебуконазола, беномила, тирама, флудиоксоила и других антимикотических препаратов. Использование химических фунгицидов в сельском хозяйстве имеет ряд недостатков: формирование стойких рас возбудителей, токсичность для теплокровных млекопитающих и человека, ингибирование ризосферных микроорганизмов.

Подобными недостатками не обладают биологические фунгициды на основе почвенных микроорганизмов. Предварительная обработка семян перед высевом бактериальными препаратами, обладающими фунгицидной активностью, позволяет снизить поражение посевов на начальных этапах культивирования. Оздоровление почвы и предотвращение заражения растений на ранних стадиях развития возможны при непосредственном внесении в почву микроорганизмов, синтезирующих фунгицидные вещества. В связи с этим выделение штаммов *B. subtilis*, *B. megaterium* и исследование

их фосфатмобилизирующей и антагонистической активности по отношению к фузариозным грибам являются важными в развитии биоконтрольных агентов.

### Материалы и методы исследования

В качестве материалов исследования использовались микроорганизмы с фосфатмобилизирующей и противомикробной активностью рода *Bacillus*.

В работе были использованы следующие питательные среды:

Картофельно-декстрозный агар, (г/л): отвар картофеля — 200; декстроза — 20; агар-агар — 20; пептон — 10.

Жидкая среда NBRIP, (г/л): глюкоза — 10,0;  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  — 5,0;  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  — 5,0;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  — 0,25; KCl — 2,0;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  — 0,1. pH 6,8–7,0.

Твердая питательная среда NBRIP-БРВ, (г/л): глюкоза — 10,0;  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  — 5,0;  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  — 5,0;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  — 0,25; KCl — 2,0;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  — 0,1; агар — 15,0; бромфеноловый синий — 0,025. pH 6,8–7,0.

Отбор проб почв проводили в соответствии с ГОСТом 28168–89 [10]. Выделение фосфатмобилизирующих микроорганизмов проводили на плотной питательной среде NBRIP-БРВ и жидкой среде NBRIP [11].

Концентрацию фосфора в растворе определяли спектрофотометрическим методом на спектрофотометре Biomate 3 (Thermo Fisher Scientific) [12].

Антагонистическую активность микроорганизмов по отношению к фитопатогенным грибам изучали на картофельно-декстрозном агаре методом агаровых блоков [13]. В качестве тест-организмов использовали фитопатогенные штаммы, взятые из коллекции штаммов микроорганизмов филиала «Национальный центр биотехнологии» в г. Степногорске: *Fusarium graminearum* — возбудитель фузариоза колоса пшеницы, *Fusarium oxysporum* — возбудитель фузариозной корневой гнили пшеницы.

Количественный учет микроорганизмов велся методом серийных разведений, методом прямого подсчета в камере Горяева и методом посева по Коху [14].

### Результаты

Выделение микроорганизмов с фосфатмобилизирующей активностью проводили из образцов черноземных почв пшеничных полей КХ «Азамат» (Акмолинская область, село Азат).

*Bacillus megaterium* является представителем эффективной микрофлоры плодородных почв. Как характерно для многих почвенных бактерий, *Bacillus megaterium* образует эндоспоры. С целью выделения *Bacillus megaterium* образцы почвы нагревали для уничтожения неспорообразующих мезофилов. Затем образцы почвы (0,5 г) смешивали с 50 мл стерильной дистиллированной воды, встряхивали на шейкере в течение 2 ч. Образцы вносили в жидкую среду NBRIP (5 мл на 100 мл среды), инкубировали на шейкере-инкубаторе 48 ч при температуре 28 °С и 190 об/мин. При данных условиях преимущественно развиваются микроорганизмы, способные к растворению трикальцийфосфата и переводу его в доступную для растений форму. Через 48 ч культивирования готовили последовательные десятикратные разведения полученной суспензии микроорганизмов и проводили поверхностный высев на плотную питательную среду Герретсена с трикальцийфосфатом. При растворении трикальцийфосфата происходило образование зон просветления (зон гало) на изначально мутной среде.

В результате выполненных работ выделены 17 изолятов с фосфатмобилизирующей активностью. Идентификацию изолятов проводили на основании морфологических, культуральных и физиологических признаков, используя «Определитель бактерий Берджи». Все изоляты образовывали полностью белые, округлые, гладкие и блестящие колонии. Микроскопическое наблюдение этих изолятов показало, что они представляют собой грамположительные, палочковидные эндоспорообразующие бактерии. Согласно физиолого-биохимическим признакам выделенные изоляты идентифицированы как *Bacillus megaterium*.

Эффективность фосфатмобилизации штаммов *Bacillus megaterium* была протестирована на твердой среде NBRIP с добавлением бромфенолового синего (NBRIP-БРВ). При изменении реакции среды в кислую сторону под действием микробных метаболитов происходило просветление питательной среды. Результаты тестов представлены в таблице 1.

Таблица 1

Зона солюбилизации, производимая штаммами *Bacillus megaterium*

Обозначение штамма	Диаметр зоны просветления, мм	Обозначение штамма	Диаметр зоны просветления, мм
AA1	18	AA10	22
AA2	22	AA11	15
AA3	18	AA12	22
AA4	21	AA13	19
AA5	28	AA14	17
AA6	24	AA15	29
AA7	29	AA16	23
AA8	27	AA17	26
AA9	24	-	-

Как видно из данных, представленных в таблице 1, все выделенные штаммы обладают способностью к солюбилизации фосфора.

У штаммов, показавших наибольшую солюбилизирующую способность на твердой среде AA4, AA7, AA8, AA15 и AA17, была определена солюбилизирующая способность на жидкой среде NBRIP, содержащей нерастворимый ортофосфат кальция. После инкубации колб в течение 72 ч при 28 °С и 200 об/мин провели анализы на содержание растворенного фосфора и pH в культуральной жидкости. Результаты экспериментов представлены в таблице 2.

Таблица 2

## Концентрация растворенного фосфора и pH среды после инкубации фосфатмобилизирующих штаммов в течение 72 ч на жидкой среде NBRIP

Штамм	Свободный фосфор, мг/мл	pH	Титр
Исходные данные	0,50(±0,02)	7,0	10 <sup>7</sup>
AA4	2,11(±0,04)	5,42	2,5·10 <sup>8</sup>
AA7	2,72(±0,08)	5,3	3,2·10 <sup>9</sup>
AA8	3,05(±0,12)	5,19	2,9·10 <sup>9</sup>
AA15	2,28(±0,08)	5,45	6,1·10 <sup>8</sup>
AA17	3,52(±0,05)	5,1	3,7·10 <sup>9</sup>

По данным таблицы 2 видно, что содержание растворенного фосфора увеличилось в 4–7 раза. Также pH культуральной жидкости у данных штаммов уменьшился с 7,0 до 5,1–5,4. Таким образом, солюбилизация фосфора коррелирует со снижением pH среды бактериями.

Выделение микроорганизмов с антагонистической активностью проводили аналогично по методике выделения *Bacillus megaterium*. Как характерно для многих почвенных бактерий, *Bacillus subtilis* образует эндоспоры.

Также из образцов почвы было выделено 36 изолятов с антимикробной активностью. Из них 15 показали явную антагонистическую активность против *F. graminearum* и *F. oxysporum*. Согласно культурально-морфологическим и физиолого-биохимическим признакам выделенные изоляты идентифицированы как *Bacillus subtilis*.

Антагонистическую активность выделенных штаммов *Bacillus subtilis* и штаммов *Bacillus megaterium*, показавших наибольшую солюбилизирующую способность, исследовали к 2 тест-штаммам: *Fusarium graminearum* (фузариоз колоса пшеницы) и *Fusarium oxysporum* (фузариозная корневая гниль пшеницы) методом агаровых блоков. Результаты представлены в таблице 3.

По результатам, представленным в таблице 3, видно, что штаммы *Bacillus megaterium* AA4, AA7, AA8, AA15 и AA17, а также *Bacillus subtilis* AS7, AS14, AS22, AS29 и AS34 обладают антагонистической активностью по отношению *F. graminearum* и *F. oxysporum*. На рисунке представлены *in vitro* тесты по антагонистической активности изолята AS29 в отношении *F. graminearum* и *F. oxysporum* на картофельно-декстрозном агаре на 5-й день инкубации при 28 °С.

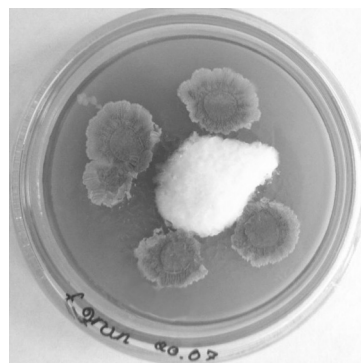
**Антагонистическая активность штаммов против *F. graminearum* и *F. oxysporum* на картофельно-декстрозном агаре**

№	Штамм	Ингибированное расстояние против штаммов	
		<i>F. graminearum</i>	<i>F. oxysporum</i>
1	<i>Bacillus megaterium</i> AA4	+	++
2	<i>Bacillus megaterium</i> AA7	+	+
3	<i>Bacillus megaterium</i> AA8	++	++
4	<i>Bacillus megaterium</i> AA15	++	++
5	<i>Bacillus megaterium</i> AA17	+	++
6	<i>Bacillus subtilis</i> AS2	+	+
7	<i>Bacillus subtilis</i> AS5	++	+
8	<i>Bacillus subtilis</i> AS7	++	++
9	<i>Bacillus subtilis</i> AS9	+	++
10	<i>Bacillus subtilis</i> AS10	+	+
11	<i>Bacillus subtilis</i> AS12	+	+
12	<i>Bacillus subtilis</i> AS14	+++	++
13	<i>Bacillus subtilis</i> AS17	+	++
14	<i>Bacillus subtilis</i> AS21	+	+
15	<i>Bacillus subtilis</i> AS22	++	++
16	<i>Bacillus subtilis</i> AS23	++	+
17	<i>Bacillus subtilis</i> AS29	+++	+++
18	<i>Bacillus subtilis</i> AS31	+	++
19	<i>Bacillus subtilis</i> AS32	+	++
20	<i>Bacillus subtilis</i> AS34	++	++

Примечание. «+» — малочувствительные, прозрачная зона от роста гриба (1 мм); «++» — чувствительные, прозрачная зона от роста гриба (1–3 мм); «+++» — высокочувствительные, прозрачная зона от роста гриба (>3 мм).



а — *F. graminearum* контроль



б — штамм AS29 против *F. graminearum*



в — *F. oxysporum* контроль



г — штамм AS29 против *F. oxysporum*

Рисунок. *In vitro* тесты по антагонистической активности штамма AS29 в отношении *F. graminearum* и *F. oxysporum*

## Заключение

В результате проведенных работ из образцов черноземных почв пшеничных полей выделены и изучены физиолого-биохимические свойства культур *Bacillus megaterium* и *Bacillus subtilis*. Согласно культурально-морфологическим и физиолого-биохимическим признакам выделенные изоляты идентифицированы как *Bacillus subtilis* и *Bacillus megaterium*. Изучена эффективность фосфатмобилизации штаммов *Bacillus megaterium*. В результате из выделенных 17 изолятов 5 показали наибольшую солибилизирующую способность на твердой среде. Определена солибилизирующая способность на жидкой среде NBRIP, где содержание растворенного фосфора увеличилось в 4–7 раза, а pH культуральной жидкости у данных штаммов уменьшился с 7,0 до 5,1–5,4. Также проведены работы по изучению антагонистической активности выделенных штаммов *Bacillus subtilis* и *Bacillus megaterium* к 2 тест-штаммам: *Fusarium graminearum* и *Fusarium oxysporum*. На основании полученных данных штаммы *Bacillus megaterium* AA4, AA7, AA8, AA15 и AA17, а также штаммы *Bacillus subtilis* AS7, AS14, AS22, AS29 и AS34 обладают антагонистической активностью по отношению *F. graminearum* и *F. oxysporum*.

Данная работа была выполнена в рамках проекта BR06349586 НТП «Трансферт и адаптация технологий по точному земледелию при производстве продукции растениеводства по принципу «демонстрационных хозяйств (полигонов)» в Асмолинской области» на 2018–2020 гг.

## Список литературы

- 1 Gouda S. Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture / S. Gouda, R.G. Kerry, G. Das, S. Paramithiotis, H.-S. Shin, J.K. Patra // Microbiol. Res. — 2018. — Vol. 206. — P. 131–140. <https://doi.org/10.1016/J.MICRES.2017.08.016>
- 2 Pérez-Montaño F. Plant growth promotion in cereal and leguminous agricultural important plants: From microorganism capacities to crop production / F. Pérez-Montaño, C. Aliás-Villegas, R.A. Bellogín, P. del Cerro, M.R. Espuny, I. Jiménez-Guerrero, F.J. López-Baena, F.J. Ollero, T. Cubo // Microbiol. Res. — 2014. — Vol. 169. — P. 325–336. <https://doi.org/10.1016/J.MICRES.2013.09.011>
- 3 Shailendra Singh G.G. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Current and Future Prospects for Development of Sustainable Agriculture / G.G. Shailendra Singh // J. Microb. Biochem. Technol. — 2015. — Vol. 7. — P. 96–102. <https://doi.org/10.4172/1948-5948.1000188>
- 4 Ahemad M. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective / M. Ahemad, M. Kibret // J. King Saud Univ. Sci. — 2014. — Vol. 26. — P. 1–20. <https://doi.org/10.1016/J.JKSUS.2013.05.001>
- 5 Villarreal-delgado M.F. The genus *Bacillus* as a biological control agent and its implications in the agricultural biosecurity / M.F. Villarreal-delgado, E.D. Villa-rodriguez, L.A. Cira-chavez, M. Isa-, I.T. Sonora, D.F. De Sur, C.C. Cp // Mexican Journal of Phytopathology. — 2018. — P. 95–130. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1706-5>
- 6 Figueroa-López A.M. Rhizospheric bacteria of maize with potential for biocontrol of *Fusarium verticillioides* / A.M. Figueroa-López, J.D. Cordero-Ramírez, J.C. Martínez-Álvarez, M. López-Meyer, G.J. Lizárraga-Sánchez, R. Félix-Gastélum, C. Castro-Martínez, I.E. Maldonado-Mendoza // Springerplus. — 2016. — Vol. 5. — P. 330. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-1780-x>
- 7 Sabaté D.C. Biocontrol of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary on common bean by native lipopeptide-producer *Bacillus* strains / D.C. Sabaté, C.P. Brandan, G. Petroselli, R. Erra-Balsells, M.C. Audisio // Microbiol. Res. — 2018. — Vol. 211. — P. 21–30. <https://doi.org/10.1016/J.MICRES.2018.04.003>
- 8 Arfaoui A. Isolation and identification of cultivated bacteria associated with soybeans and their biocontrol activity against *Phytophthora sojae* / A. Arfaoui, L.R. Adam, A. Bezzahou, F. Daayf // BioControl. — 2018. — Vol. 63. — P. 1–11. <https://doi.org/10.1007/s10526-018-9873-9>
- 9 Li H. Biological control of wheat stripe rust by an endophytic *Bacillus subtilis* strain E1R-j in greenhouse and field trials / H. Li, J. Zhao, H. Feng, L. Huang, Z. Kang // Crop Prot. — 2013. — Vol. 43. — P. 201–206. <https://doi.org/10.1016/J.CROPRO.2012.09.008>
- 10 ГОСТ 28168–89. Почвы. Отбор проб.
- 11 Yasmin H. Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from rhizosphere soil of weeds of khewra salt range and attock / H. Yasmin, A. Bano // Pakistan Journal of Botany. — 2011. — No. 3. — P. 1663–1668.
- 12 ГОСТ 26211–91. Почвы. Определение подвижных соединений фосфора по методу Аррениуса в модификации ВИУА.
- 13 Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках / Н.С. Егоров. — М.: Изд-во МГУ; Наука, 2004. — 503 с.
- 14 Нетрусова А.И. Практикум по микробиологии / А.И. Нетрусова. — М.: Академия, 2005. — 608 с.

Н.К. Жаппар, В.М. Шайхутдинов, Л.Ж. Байрон, Б.М. Мырзабаев,  
К.А. Зейнелов, А.К. Шибаяева, М.Ю. Ишмуратова

### **Фосфатмобилизациялайтын және микробқа қарсы қасиеттері бар *Bacillus megaterium* және *Bacillus subtilis* перспективті штамдарын бөліп алу**

Мақалада *Bacillus megaterium* және *Bacillus subtilis* дақылдарын бөліп алу және физиологиялық-биохимиялық қасиеттерін зерттеу бойынша деректер ұсынылған. Дақылдарды бөліп алу үшін материалдар ретінде бидай алқаптарынан алынған қара топырақ үлгілері қолданылды. Үлгілерден 36 микробқа қарсы және 17 өсуді ынталандырушы қасиеттері бар изоляттар бөлінді. Бұл изоляттардың микроскопиялық бақылау нәтижесі олардың грампозитивті, таяқша тәрізді эндоспор түзетін бактериялар екенін көрсетті. Культуралды-морфологиялық және физиологиялық-биохимиялық сипаттамаларға сәйкес оқшауланған изоляттар *Bacillus subtilis* және *Bacillus megaterium* деп анықталды. *Bacillus megaterium* штамдарының фосфатмобилизациялайтын тиімділігі зерттелді. Нәтижесінде 17 изоляттың 5-і қатты коректік ортада ең жоғары солубилизациялану қабілетін көрсетті. NBRIP сұйық коректік ортасында солубилизациялану қабілеті анықталды, онда ерітілген фосфордың құрамы 4–7 есеге артты, ал аталған штамдарда дақылдық сұйықтықтың рН деңгейі 7,0-ден 5,1–5,4-ке дейін азайды. Сондай-ақ, *Bacillus subtilis* және *Bacillus megaterium* бөлінген штамдарының *Fusarium graminearum* және *Fusarium oxysporum* тест-штамдарына деген антагонистік белсенділігін зерттеу бойынша жұмыстар жүргізілді. Алынған нәтижелер негізінде *Bacillus megaterium* AA4, AA7, AA8, AA15 және AA17 штамдары, сондай-ақ *Bacillus subtilis* AS7, AS14, AS22, AS29 және AS34 штамдары *F. graminearum* және *F. oxysporum* қатысты антагонистік белсенділікке ие.

*Кілт сөздер:* микроорганизмдер, изолят, штамм, фосфатмобилизациялайтын белсенділік, антагонистік белсенділік, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*.

N.K. Zhappar, V.M. Shaikhutdinov, L. Zh. Bairon, B.M. Myrzabayev,  
K.A. Zeinelov, A.K. Shibayeva, M. Yu. Ishmuratova

### **Isolation of promising strains of *Bacillus megaterium* and *Bacillus subtilis* with phosphate mobilizing and antimicrobial properties**

This article presents data on the isolation and study of physiological and biochemical properties of cultures of *Bacillus megaterium* and *Bacillus subtilis*. The samples of black earth soils of wheat fields were used as materials for isolation of cultures, where 36 isolates with antimicrobial and 17 isolates with phosphate mobilizing properties were isolated from the samples. Microscopic observation of these isolates has shown that they are gram-positive, rod-shaped endospore-forming bacteria. According to cultural-morphological and physiological-biochemical features, isolated isolates were identified as *Bacillus subtilis* and *Bacillus megaterium*. The efficiency of phosphate mobilization of *Bacillus megaterium* strains was studied. As a result, 5 of 17 isolates are showed the highest solubilizing capacity on a solid medium. Solubilizing ability was determined on NBRIP liquid medium, where the content of dissolved phosphorus increased in 4–7 times, and the pH of the cultural liquid in these strains decreased from 7.0 to 5.1–5.4. The antagonistic activity of isolated strains of *Bacillus subtilis* and *Bacillus megaterium* against 2 test strains, *Fusarium graminearum* and *Fusarium oxysporum*, was also carried out. On the basis of the data obtained, strains of *Bacillus megaterium* AA4, AA7, AA8, AA15 and AA17, as well as strains of *Bacillus subtilis* AS7, AS14, AS22, AS29 and AS34 have antagonistic activity against *F. graminearum* and *F. oxysporum*.

*Keywords:* microorganisms, isolate, strain, phosphate mobilizing activity, antagonistic activity, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*.

#### References

- 1 Gouda, S., Kerry, R.G., Das, G., Paramithiotis, S., Shin, H.-S., & Patra, J.K. (2018). Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. *Microbiol. Res.*, 206, 131–140. <https://doi.org/10.1016/J.MICRES.2017.08.016>
- 2 Pérez-Montaña, F., Alias-Villegas, C., Bellogín, R.A., del Cerro, P., Espuny, M.R., & Jiménez-Guerrero, et al. (2014). Plant growth promotion in cereal and leguminous agricultural important plants: From microorganism capacities to crop production. *Microbiol. Res.*, 169, 325–336. <https://doi.org/10.1016/J.MICRES.2013.09.011>
- 3 Shailendra Singh, G.G. (2015). Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Current and Future Prospects for Development of Sustainable Agriculture. *J. Microb. Biochem. Technol.*, 07, 96–102. <https://doi.org/10.4172/1948-5948.1000188>
- 4 Ahemad, M., & Kibret, M. (2014). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *J. King Saud Univ.*, 26, 1–20. <https://doi.org/10.1016/J.KJSUS.2013.05.001>

- 5 Villarreal-delgado, M.F., Villa-rodríguez, E.D., Cira-chávez, L.A., Isa-, M., Sonora, I.T., De Sur, D.F., & Cp, C.C. (2018) The genus *Bacillus* as a biological control agent and its implications in the agricultural biosecurity. *Mexican Journal of Phytopathology*, 95–130. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1706-5>
- 6 Figueroa-López, A.M., Cordero-Ramírez, J.D., Martínez-Álvarez, J.C., López-Meyer, M., Lizárraga-Sánchez, G.J., & Félix-Gastélum, R., et al. (2016). Rhizospheric bacteria of maize with potential for biocontrol of *Fusarium verticillioides*. *Springerplus*, 5, 330. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-1780-x>
- 7 Sabaté, D.C., Brandan, C.P., Petroselli, G., Erra-Balsells, R., Audisio, M.C. (2018) Biocontrol of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary on common bean by native lipopeptide-producer *Bacillus* strains. *Microbiol. Res.*, 211, 21–30. <https://doi.org/10.1016/J.MICRES.2018.04.003>
- 8 Arfaoui, A., Adam, L.R., Bezzahou, A., & Daayf, F. (2018) Isolation and identification of cultivated bacteria associated with soybeans and their biocontrol activity against *Phytophthora sojae*. *BioControl*, 63, 1–11. <https://doi.org/10.1007/s10526-018-9873-9>
- 9 Li, H., Zhao, J., Feng, H., Huang, L., & Kang, Z. (2013). Biological control of wheat stripe rust by an endophytic *Bacillus subtilis* strain E1R-j in greenhouse and field trials. *Crop Prot*, 43, 201–206. <https://doi.org/10.1016/J.CROPRO.2012.09.008>
- 10 GOST 28168–89. Pochvy. Otbor prob [State standard 28168–89. Soil. Sampling] [in Russian].
- 11 Yasmin, H., & Bano, A. (2011). Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from rhizosphere soil of weeds of khewra salt range and attock. *Pakistan Journal of Botany*, 3, 1663–1668.
- 12 GOST 26211–91. Pochvy. Opredelenie podvizhnykh soedinenij fosfora po metodu Arreniusa v modifikatsii VTUA [State standard 26211–91. Soils. Determination of mobile compounds of phosphorus by Arrhenius method modified by VTUA] [in Russian].
- 13 Egorov, N.S. (2004). *Osnovy ucheniia ob antibiotikakh [Fundamentals of the doctrine of antibiotics]*. Moscow: Izdatelstvo Moskovskogo gosudarstvennogo universiteta; Nauka [in Russian].
- 14 Netrusova, A.I. (2005) *Praktikum po mikrobiologii [Microbiology Practicum]*. Moscow: Akademiia [in Russian].