

## Оптимизация микробиологического состава биопрепарата при выращивании лядвенца рогатого (*Lotus corniculatus* L.)

© 2019. Л. И. Домрачева<sup>1,2</sup>, д. б. н., профессор, Д. В. Козылбаева<sup>1</sup>, аспирант, А. Л. Ковина<sup>1</sup>, к. б. н., доцент, Л. В. Трефилова<sup>1</sup>, к. б. н., доцент, Ю. Н. Зыкова<sup>1</sup>, к. б. н., доцент, М. Н. Грипас<sup>3</sup>, к. с-х. н., с. н. с., В. А. Изотова<sup>1</sup>, магистрант,

<sup>1</sup>Вятская государственная сельскохозяйственная академия, 610017, Россия, г. Киров, Октябрьский проспект, 133,

<sup>2</sup>Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, 167982, Россия, Республика Коми, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28,

<sup>3</sup>Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока им. Н. В. Рудницкого, 610007, Россия, г. Киров, ул. Ленина, 166а, e-mail: dli-alga@mail.ru

Исследовали эффективность предпосевной обработки семян лядвенца рогатого (*Lotus corniculatus* L.) моно- и поликомпонентными ассоциациями на основе клубеньковых бактерий (КБ) *Rhizobium loti* 1801, цианобактерии (ЦБ) *Fischerella muscicola* 300 и актинобактерии (АБ) *Streptomyces hygroscopicus* A4. При оценке эффективности инокуляции проводили определение ксеромассы надземной части растений, интенсивность образования клубеньков на корнях (степень нодуляции) и состояние ризосферной микрофлоры. Показано, что наиболее перспективными биологическими агентами для создания комплексного препарата, предназначенного для увеличения урожайности лядвенца рогатого, являются бинарные ассоциации *Rh. loti* 1801+ *F. muscicola* 300, *Rh. loti* + *S. hygroscopicus* A4 и тройная *Rh. loti* 1801+ *F. muscicola* 300 + *S. hygroscopicus* A4. В этих же вариантах отмечается максимальное количество клубеньков на корнях. Установлено, что интродукция микроорганизмов, попадающих в почву с семенами лядвенца, стимулировала развитие аммонифицирующих бактерий.

**Ключевые слова:** лядвенец рогатый, микробные ассоциации, инокуляция семян, ризосферная микрофлора.

## Optimization of the microbiological composition of the biological product for cultivation of *Lotus corniculatus*

© 2019. L. I. Domracheva<sup>1,2</sup> ORCID: 0000-0002-7104-3337\*

D. V. Kozylbayeva<sup>1</sup> ORCID: 0000-0001-8882-9355\*, A. L. Kovina<sup>1</sup> ORCID: 0000-0003-0503-3402\*

L. V. Trefilova<sup>1</sup> ORCID: 0000-0002-9932-5803\* Yu. N. Zyкова<sup>1</sup> ORCID: 0000-0003-0711-250X\*

M. N. Griпас<sup>3</sup> ORCID: 0000-0003-1773-4142\* V. A. Izotova<sup>1</sup> ORCID: 0000-0001-5289-1755\*

<sup>1</sup>Vyatka State Agricultural Academy,

133, Oktyabrskiy Prospekt, Kirov, Russia, 610017,

<sup>2</sup>Institute of Biology of the Komi Science Centre of the Ural Branch of RAS, 28, Kommunisticheskaya St., Syktyvkar, Russia, 167982,

<sup>3</sup>Federal Agricultural Research Center of North East named N.V. Rudnitsky, 166a, Lenina St., Kirov, Russia, 610007,

e-mail: dli-alga@mail.ru

In a field experiment the effectiveness of presowing treatment of seeds of *Lotus corniculatus* by mono- and multicomponent microbial associations has been investigated. The associations were based on the nodule bacteria (NB) of *Rhizobium loti*, cyanobacteria (CB) *Fischerella muscicola* and actinobacteria (AB) *Streptomyces hygroscopicus* A4. Evaluation of effectiveness was carried out by the analysis of morphometric parameters of the aerial part and the plants biomass, as well as the intensity of the tubercles formation. The results obtained during two years of studying the effect of different microbes-introducents on the formation of the crop of *Lotus corniculatus* undoubtedly showed that the most effective option was the treatment of seeds with a three-component association based on KB, CB and AB. The biomass yield in this variant, both in the first year and in the second year of vegetation, was higher by 80.0% compared with the control, while the nodulation intensity was also higher by 37.6% in the variant with three-component bacterization of

seeds. The results of quantitative accounting of microorganisms showed that certain changes occur in the composition of microbial complexes. Thus, in some variants, sharp fluctuations in the number of ammonifiers and actinomycetes are noted. Least of all microbial introduction affected the number of nitrogen fixers. All these changes can be caused by the influence of introduced microbes on the native microflora, and are probably associated with the volumes of isolated root exometabolites, which, in turn, are affected by the species composition of inoculant microbes. It is shown that the introduction of microorganisms into the soil with seeds stimulates the development of agronomically useful native soil microbiota. CB and AB can be attributed to the set of promising biological agents for the creation of a complex preparation designed to increase the productivity and yield of *Lotus corniculatus*.

**Keywords:** *Lotus corniculatus*, microbial associations, seed inoculation, rhizosphere microflora.

Использование биопрепаратов на основе микроорганизмов различных систематических групп, в той или иной степени влияющих на плодородие почвы и урожайность культур, стало неотъемлемой частью современного сельского хозяйства. Однако применение биопрепаратов имеет ряд ограничений, связанных, например, с отсутствием региональных штаммов, конкурентоспособностью штаммов, отсутствием подходящего носителя, часто возникающими мутациями, а также репрессивным действием абиотических факторов [1]. Основная биотехнологическая схема получения биопрепаратов предполагает поиск и выделение из окружающей среды микробных популяций с определёнными функциональными характеристиками, включая азотфиксацию, синтез фитогормонов, подавление фитопатогенов и вредителей [2]. Оптимизационный подход к использованию биопрепаратов предполагает переход от использования монокультур к созданию комплексных микробных удобрений. В частности, это касается и классического бактериального удобрения на основе клубеньковых бактерий (КБ) р. *Rhizobium*, предназначенного для повышения уровня симбиотической азотфиксации бобовых культур. При этом важно знать, какой будет реакция почвенных ризомикробов (Growth Promoting Rhizobacteria) на вносимые в почву микроорганизмы, поскольку именно микроорганизмы ризосферы во многом обеспечивают иммунитет и продуктивность высшего растения [3–5]. В идеальном случае микробы-интродуценты могут и должны повышать природный функциональный потенциал природных сообществ микроорганизмов (МО).

В случае использования бактерий р. *Rhizobium* ранее нами показана эффективность использования двухкомпонентных ассоциаций на основе КБ и цианобактерий (ЦБ) для обработки семян бобовых. Было обнаружено, что под влиянием цианобактериальной обработки увеличивается количество клубеньков на корнях, эффективность азотфиксации и стимулируется рост растений. Доказано, что при микробной интродукции в почве происходят определённые изменения количественных по-

казателей и структуры микробных комплексов [6–9]. Существуют и другие примеры более успешного выживания и функционирования бинарных популяций ризобиума с другими гетеротрофными бактериями по сравнению с его выживаемостью в монокультуре [10].

Поэтому одним из перспективных направлений в разработке эффективных биопрепаратов является создание искусственных микробных ассоциаций, обладающих экологической поливалентностью.

Цель данной работы – выявление оптимального состава микробных ассоциаций, предназначенных для инокуляции семян при выращивании лядвенца рогатого.

### Объекты и методы

Объектом исследования служил лядвенец рогатый (*Lotus corniculatus* L.) сорта Солнышко [11]. Для оптимизации микробиологического состава биопрепарата «Ризоверм», на основе КБ *Rhizobium loti* Jarvis et al., шт. 1804, который широко используется при обработке семян бобовых в России, дополнительно использовали два вида МО: ЦБ и актинобактерии (АБ). Азотфиксирующая *Fischerella muscicola* (Thur.) Gom. шт. 300 выделена из дерново-подзолистой почвы в Кировской области, поддерживается в альгологически чистом виде в коллекции фототрофных микроорганизмов кафедры биологии растений, селекции и семеноводства, микробиологии Вятской государственной сельскохозяйственной академии. Культивирование фишереллы показало, что по сравнению с другими видами азотфиксирующих ЦБ, имеющимися в коллекции кафедры и используемыми в биотехнологических целях, этот вид имеет более высокую степень нарастания биомассы с длительным нахождением в активном состоянии. Проведённые тестовые испытания *F. muscicola* на культурах фитопатогенных грибов рода *Fusarium* выявили высокую степень её антагонистической активности [12].

Культура АБ *Streptomyces hygroscopicus* А4 из рабочей коллекции лаборатории биотехнологии растений и микроорганизмов

Федерального аграрного научного центра Северо-Востока им. Н. В. Рудницкого любезно предоставлена И. Г. Широких. По литературным данным, этот штамм АБ проявляет антагонистическую активность в отношении возбудителей наиболее вредоносных грибных заболеваний зерновых культур [13].

В полевом опыте посев скарифицированных инокулированных семян лядвенца проводился на микроделянки площадью 1 м<sup>2</sup> в 3-х кратной повторности в 2017 г. Почва дерново-подзолистая, среднесуглинистая, рН<sub>КCl</sub> 4,3–4,4; P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 169–179 мг/кг; K<sub>2</sub>O 144–154 мг/кг; гумус 2,27% [7, 14].

Размещение опытных и контрольных деленок рендомизированное. Варианты опыта: 1) контроль – без инокуляции; в опытных вариантах предпосевную инокуляцию семян проводили следующими культурами и их ассоциациями МО: 2) *Rhizobium loti*; 3) *Fischerella muscicola*; 4) *Streptomyces hygroscopicus* A4; 5) *F. muscicola* + *S. hygroscopicus* A4; 6) *Rh. loti* + *F. muscicola*; 7) *Rh. loti* + *S. hygroscopicus* A4; 8) *Rh. loti* + *F. muscicola* + *S. hygroscopicus* A4.

Приведены результаты урожайных данных лядвенца и состояния микробных комплексов почвы второго года пользования. Для характеристики состояния возделываемой культуры в течение вегетационного сезона 2018 г. проводили два укоса. Определение сухой массы надземной части с 1м<sup>2</sup> и объема

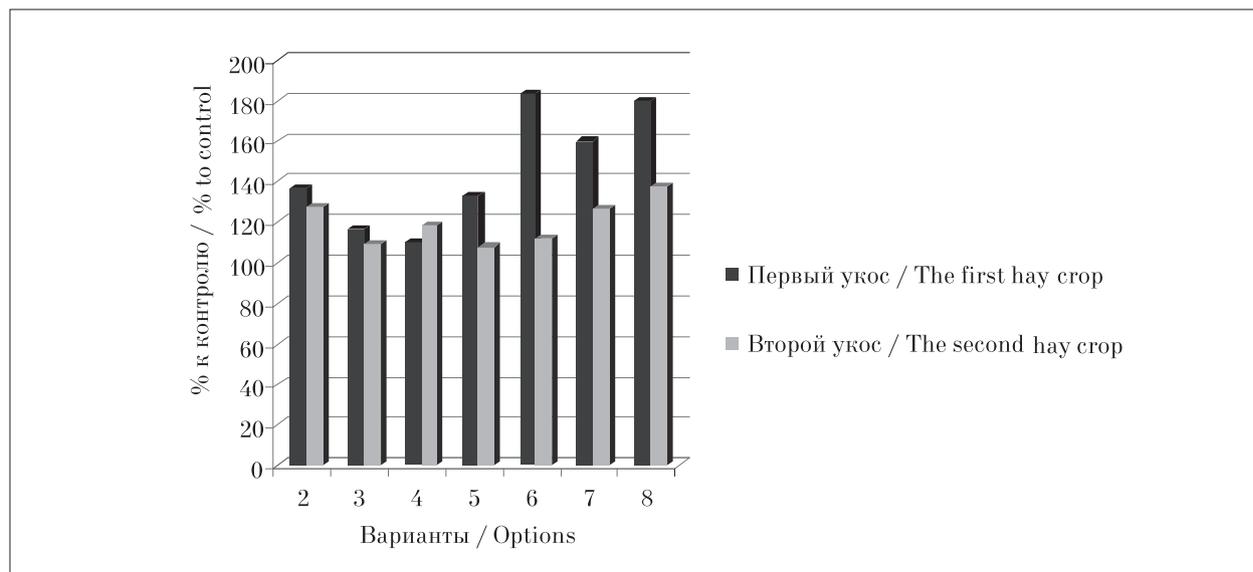
корневой системы проводили по общепринятым методикам [15], кроме того, подсчитывали количество клубеньков на корнях десяти растений во всех вариантах опыта.

В первый и второй год вегетации лядвенца отбирали образцы ризосферной почвы для микробиологического анализа согласно методике [16]. Количественный учёт ризосферной микрофлоры МО проводили методом разведения с дальнейшим посевом на селективные питательные среды: бактерии-аммонификаторы – на мясопептонный агар (МПА), азотфиксаторы – на среде Эшби, микромицеты – на среде Чапека.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы STATISTICA.

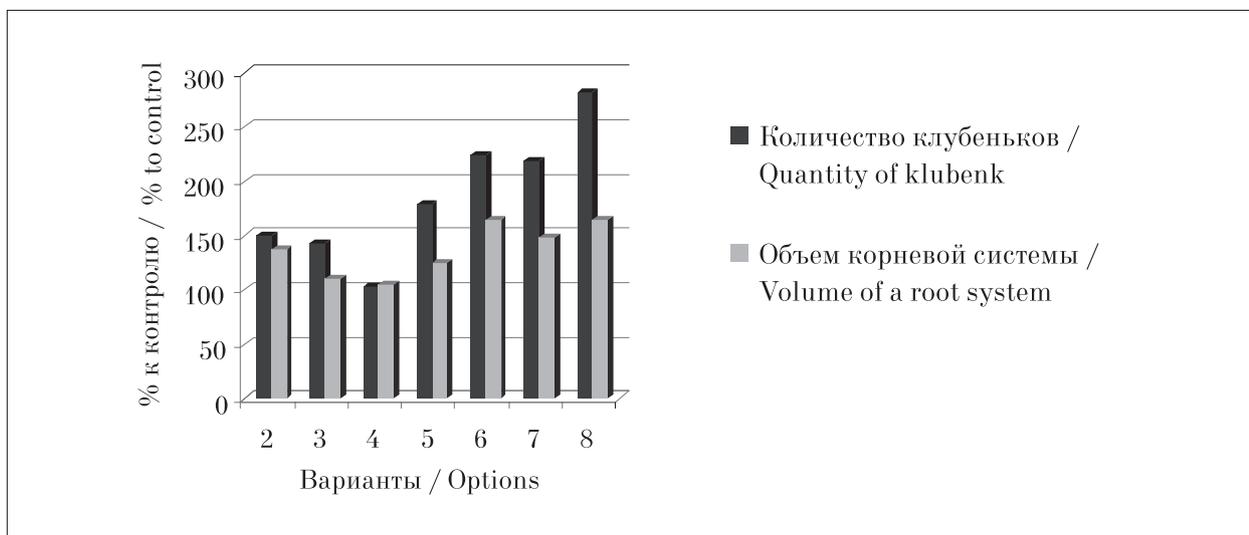
### Результаты и обсуждение

Первый укос лядвенца второго года пользования проведён в фазу цветения, второй укос – в фазу созревания семян. При определении ксеромассы надземной части лядвенца первого укоса, установлено, что этот показатель был выше во всех опытных вариантах, по сравнению с контролем. Максимальной величины достигает урожай сухой массы при обработке семян двойными ассоциациями (*Rh. loti* + *F. muscicola*) – на 83,3%; (*Rh. loti* + *S. hygroscopicus* A4) – на 60% и тройной смесью

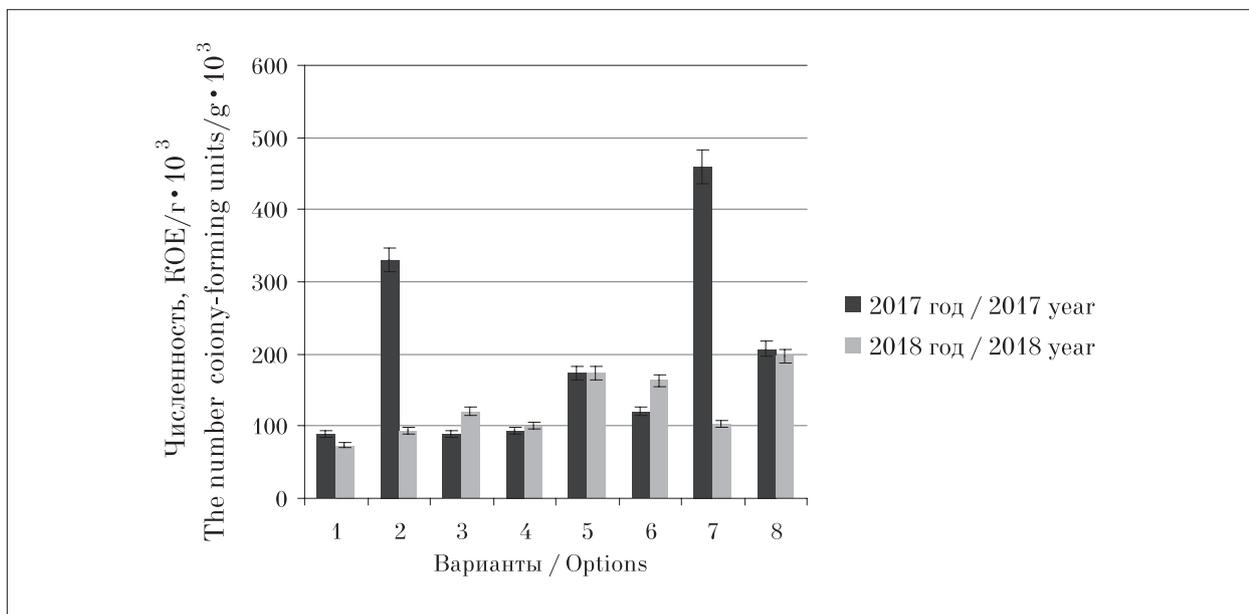


**Рис. 1.** Влияние предпосевной бактериализации семян на урожай сухой массы лядвенца рогатого второго года пользования. Варианты опыта: 1) контроль – без бактериализации; 2) *Rhizobium loti*; 3) *Fischerella muscicola*; 4) *Streptomyces hygroscopicus* A4; 5) *F. muscicola* + *S. hygroscopicus* A4; 6) *Rh. loti* + *F. muscicola*; 7) *Rh. loti* + *S. hygroscopicus* A4; 8) *Rh. loti* + *F. muscicola* + *S. hygroscopicus* A4

**Fig. 1.** Influence of presowing bacterization of seeds on the yield of dry weight of *Lotus corniculatus* on the second year of use. The variants of the experiment: 1) control – without bacterization; 2) *Rhizobium loti*; 3) *Fischerella muscicola*; 4) *Streptomyces hygroscopicus* A4; 5) *F. muscicola* + *S. hygroscopicus* A4; 6) *Rh. loti* + *F. muscicola*; 7) *Rh. loti* + *S. hygroscopicus* A4; 8) *Rh. loti* + *F. muscicola* + *S. hygroscopicus* A4



**Рис. 2.** Влияние предпосевной бактериализации семян на количество клубеньков на корнях и объём корневой системы лядвенца рогатого. Варианты опыта такие же, как на рисунке 1  
**Fig. 2.** Influence of presowing bacterization of seeds on the number of nodules on the roots and the volume of the root system of the *Lotus corniculatus*. Experience options same, as in figure 1



**Рис. 3.** Влияние предпосевной бактериализации семян на численность аммонификаторов в ризосфере лядвенца рогатого. Варианты опыта такие же, как на рисунке 1  
**Fig. 3.** Influence of presowing seeds bacterization on the number of ammonifiers in the rhizosphere of *Lotus corniculatus*. Experience options same, as in figure 1

(*Rh. loti* + *F. muscicola* + *S. hudsonicus* A4) – на 80,0%. Показатели надземной фитомассы второго укоса также были выше контроля во всех вариантах (рис. 1).

По результатам двух укосов максимальная урожайность была в вариантах, где *Rh. loti* использован в бинарных и тройной ассоциациях (рис. 1; варианты 6, 7, 8), в которых значения урожайности превышали контрольные на 95,3; 86,5 и 117,0% соответственно.

На формирование надземной части бобовых растений, несомненно, оказывает влияние объём корневой системы, количество и жизнеспособность клубеньков, поэтому в стадии цветения лядвенца определяли интенсивность нодуляции во всех вариантах (рис. 2).

Использование двойных и тройной бактериальных смесей при предпосевной инокуляции семян приводит к повышению показателей объёма корневой системы и количества

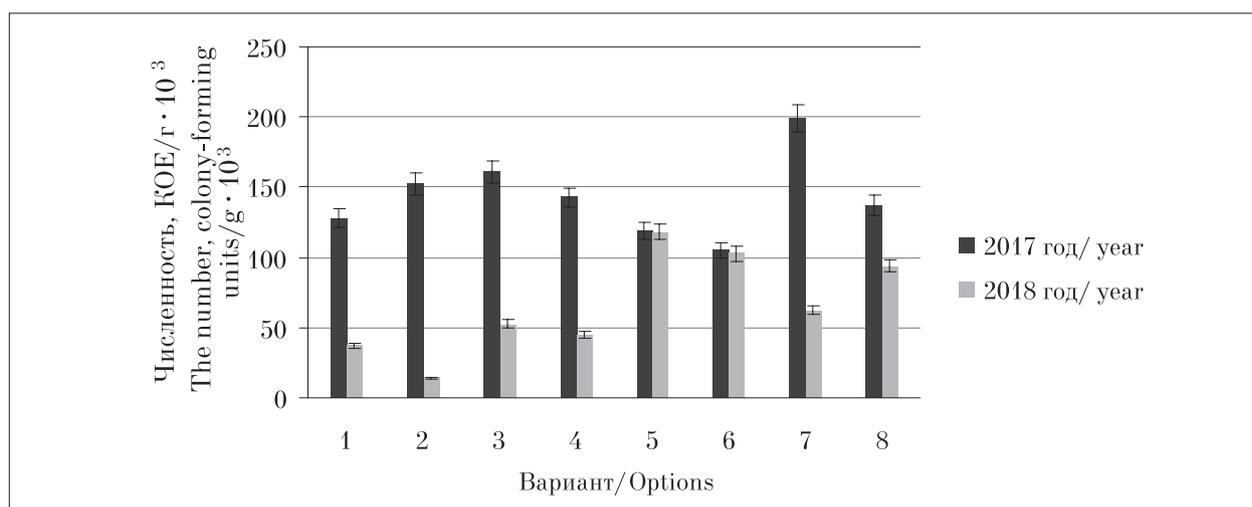
клубеньков в среднем на один корень на 64,5% и 81,5% соответственно. Самой эффективной среди всех изучаемых инокулянтов оказалась тройная смесь (*Rh. loti* + *F. muscicola* + *S. hygroscopicus* A4). В этом варианте количество клубеньков и объём корневой системы превышали соответствующие показатели в контроле на 281,5 и 164,5% соответственно.

Результаты количественного учёта ризосферной микрофлоры показывают, что в 2018 г. стимулирующее влияние интродуцентов на бактерии-аммонификаторы существенно ниже, чем в 2017 г. (рис. 3).

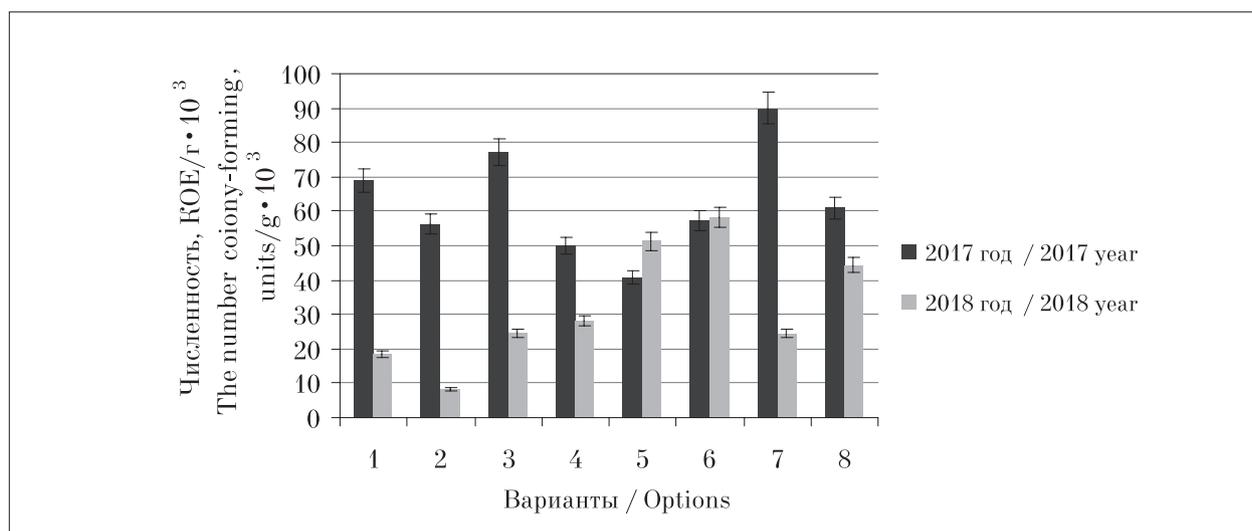
В то же время, по сравнению с контролем численность этой группы МО в нескольких вариантах превышает контрольные пока-

затели (*F. muscicola* + *S. hygroscopicus* A4, *Rh. loti* + *F. muscicola* и *Rh. loti* + *F. muscicola* + *S. hygroscopicus* A4). При этом практически одинаковые показатели в течение двух лет наблюдали в вариантах с обработкой бинарной (*F. muscicola* + *S. hygroscopicus* A4) и тройной ассоциациями (*Rh. loti* + *F. muscicola* + *S. hygroscopicus* A4).

Стимулирующий эффект микробной интродукции на численность азотфиксаторов в 2017 г. фактически проявился только в одном варианте *Rh. loti* + *S. hygroscopicus* A4, где этот показатель был в 1,4 раза выше по сравнению с контролем. В 2018 г. во всех вариантах отмечено снижение численности азотфиксаторов (рис. 4).



**Рис. 4.** Влияние предпосевной бактериализации семян на численность азотфиксаторов в ризосфере лядвенца рогатого. Варианты опыта такие же, как на рисунке 1  
**Fig. 4.** Influence of presowing seeds bacterization on the number of nitrogen fixers in the rhizosphere of *Lotus corniculatus*. Experience options same, as in Figure 1



**Рис. 5.** Влияние предпосевной бактериализации семян на численность грибов в ризосфере лядвенца рогатого. Варианты опыта такие же, как на рисунке 1  
**Fig. 5.** Influence of presowing seeds bacterization on the number of nitrogen fixers in the rhizosphere of *Lotus corniculatus*. Experience options are the same as in Figure 1

Таблица 1 / Table 1

Общая численность микроорганизмов в ризосферной почве  
Total number of microorganisms in rhizosphere soil

Вариант Option	Численность микроорганизмов Number of microorganisms	
	КОЕ/г • 10 <sup>3</sup> Colony-forming units/g • 10 <sup>3</sup>	+/- по отношению к контролю, % +/- relative to control, %
1. Контроль – без бактеризации Control – without bacterization	140,3±22,8	100,0
2. <i>Rhizobium loti</i>	125,1±10,3	-10,8
3. <i>Fischerella muscicola</i>	201,9±17,7	+43,9
4. <i>Streptomyces hygroscopicus</i>	188,5±13,7	+34,3
5. <i>F. muscicola</i> + <i>S. hygroscopicus</i>	362,3±33,2	+158,2
6. <i>Rh. loti</i> + <i>F. muscicola</i>	362,3±38,5	+158,2
7. <i>Rh. loti</i> + <i>S. hygroscopicus</i>	221,1±23,5	+57,5
8. <i>Rh. loti</i> + <i>F. muscicola</i> + <i>S. hygroscopicus</i>	356,7±43,8	+154,2

Таблица 2 / Table 2

Структура микробных комплексов (%) / Structure of microbial complexes (%)

Вариант Option	Аммонификаторы Ammonifiers	Азотфиксаторы Nitrogen fixers	Грибы Fungi
1. Контроль – без бактеризации Control – without bacterization	60,3	26,6	13,1
2. <i>Rhizobium loti</i>	82,2	11,2	6,6
3. <i>Fischerella muscicola</i>	61,6	26,1	12,3
4. <i>Streptomyces hygroscopicus</i>	61,2	23,7	15,1
5. <i>F. muscicola</i> + <i>S. hygroscopicus</i>	52,0	33,7	15,5
6. <i>Rh. loti</i> + <i>F. muscicola</i>	55,6	28,3	16,1
7. <i>Rh. loti</i> + <i>S. hygroscopicus</i>	61,4	28,0	10,6
8. <i>Rh. loti</i> + <i>F. muscicola</i> + <i>S. hygroscopicus</i>	61,2	26,3	12,5

Фактическое снижение численности грибов зафиксировано почти во всех вариантах во второй год после микробной интродукции в почву (рис. 5).

Помимо численности отдельных физиологических групп МО, для характеристики биологической активности почвы иногда используют показатель общей численности микроорганизмов (ОЧМ). Дополнительное поступление различных групп МО в почву, связанное с инокуляцией семян, даже во второй год пользования в определённой степени стимулирует размножение изучаемых групп ризосферных МО. Максимальные показатели ОЧМ характерны для вариантов с бинарными смесями *F. muscicola* + *S. hygroscopicus* А4, *Rh. loti* + *F. muscicola* и в варианте с тройной ассоциацией *Rh. loti* + *F. muscicola* + *S. hygroscopicus* А4, в которых данный показатель превышает контрольную величину на 158,2; 158,2; 154,2% соответственно (табл. 1).

Анализ структуры исследуемых микробных комплексов показывает, что доминирующим компонентом во всех вариантах являются аммонификаторы, доля которых колеблется от 52,0 до 82,2% (табл. 2).

Второй по значимости группой микроорганизмов являются азотфиксаторы, доля которых в структуре микробных комплексов колеблется от 11,2 до 33,7%. В качестве минорного компонента во всех вариантах выступают микромицеты, у которых доля участия в варианте с *Rh. loti* всего лишь 6,6%.

### Заключение

Таким образом, результаты исследований по влиянию одинарных, бинарных и тройной ассоциаций микробов-интродуцентов на формирование урожая лядвенца рогатого несомненно показывают, что наиболее перспективными биологическими агентами для создания

комплексного препарата, предназначенного для увеличения урожайности лядвенца рогатого, являются бинарные ассоциации *Rh. loti* + *F. muscicola*, *Rh. loti* + *S. hygroscopicus* А4 и тройная *Rh. loti* + *F. muscicola* + *S. hygroscopicus* А4. В этих же вариантах отмечается максимальное количество клубеньков на корнях.

Предпосевная инокуляция семян штаммами микроорганизмов, изначально выделенных из почв Кировской области, *S. hygroscopicus* А4 и *F. muscicola*, при внесении их в почву фактически является не интродукцией, а реинтродукцией и не ингибирует развитие полезной аборигенной микрофлоры.

*Работа выполнена в рамках государственного задания Института биологии Коми НЦ УрО РАН по теме «Оценка и прогноз отсроченного техногенного воздействия на природные и трансформированные экосистемы подзоны южной тайги» № 0414-2018-0003.*

## Литература

1. Андреева О.А., Кожевин П.А. Валидность методов фитотестирования при контроле микробных препаратов, полученных на основе естественных микробных сообществ // Биодиагностика и оценка качества природной среды: подходы, методы, критерии и эталоны сравнения в экотоксикологии. Материалы междунар. симпозиума и молодёжной школы. М.: Геос, 2016. С. 317–318.
2. Андреева О.А., Кожевин П.А. Оптимизация естественного сообщества микроорганизмов почвы как способ создания микробных удобрений // Вестник Московского университета. Сер. 17. Почвоведение. 2014. № 4. С. 42–45.
3. Gamalero E., Glick Bernard R. Mechanisms used by plant growth promoting bacteria // *Bacteria in Agrobiolgy: Plant Nutrient Management*. Berlin, Heidelberg, 2011. P. 17–46.
4. Lewis K., Epstein S., D'Onofrio A., Ling L.L. Uncultured microorganisms as a source of secondary metabolites // *J. Antibiotics*. 2010. No. 4. P. 1–9.
5. Kinkel L.L., Schlatter D.C., Bakker M.G., Arenz B.E. *Streptomyces* competition and co-evolution in relation to plant disease suppression // *Res. in Microbiol.* 2012. V. 163. P. 490–499.
6. Панкратова Е.М., Трефилова Л.В., Зяблых Р.Ю., Устюжанин И.А. Цианобактерия *Nostoc paludosum* Kütz. как основа для создания агрономически полезных микробных ассоциаций на примере бактерий рода *Rhizobium* // *Микробиология*. 2008. Т. 77. № 2. С. 266–272.
7. Домрачева Л.И., Трефилова Л.В., Ковина А.Л., Горностаева Е.А., Малыгина О.Н., Новокшенова Н.В. Влияние способов предпосевной обработки семян ляд-

венца рогатого (*Lotus corniculatus* L.) на всхожесть и интенсивность образования клубеньков // *Теоретическая и прикладная экология*. 2014. № 3. С. 67–72.

8. Малыгина О.Н., Козылбаева Д.В., Домрачева Л.И., Трефилова Л.В., Ковина А.Л., Товстик Е.В. Влияние интродукции в почву различных микроорганизмов на численность ризосферной микрофлоры лядвенца рогатого (*Lotus corniculatus* L.) // *Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных систем: Материалы XV Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием*. Кн. 2. Киров, 2017. С. 92–97.

9. Домрачева Л.И., Трефилова Л.В., Ковина А.Л., Горностаева Е.А., Казакова Д.В., Субботина Е.С. Микробная интродукция и состояние почвенной аборигенной микрофлоры // *Теоретическая и прикладная экология*. 2015. № 2. С. 55–59.

10. Суховицкая Л.А., Сафронова Г.В., Клышко Г.М., Короленок И.В. Выживаемость *Rhizobium* в монокультуре и бинарных популяциях с ризосферными бактериями // *Прикладная биохимия и микробиология*. 2002. Т. 38. № 1. С. 73–78.

11. Технология возделывания лядвенца рогатого (*Lotus corniculatus* L.) на корм и семена / Под общей ред. М.И. Тумасовой. Киров, 2003. 39 с.

12. Гайфутдинова А.Р., Домрачева Л.И., Трефилова Л.В. Перспективы использования *Fischerella muscicola* и азид натрия для подавления развития *Fusarium solani* // *Теоретическая и прикладная экология*. 2013. № 2. С. 124–128.

13. Широких И.Г., Козлова Л.М., Широких А.А., Попова Ф.А., Товстик Е.В. Влияние способа обработки почвы и биопрепаратов на комплексы микромицетов в ризосфере и ризоплане яровой пшеницы // *Почвоведение*. 2017. № 7. С. 837–843.

14. Козылбаева Д.В., Малыгина О.Н., Трефилова Л.В., Ковина А.Л., Домрачева Л.И., Товстик Е.В. Влияние бактериальной инокуляции семян лядвенца рогатого (*Lotus corniculatus* L.) на морфометрические показатели // *Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных систем: Материалы XV Всероссийской науч.-практ. конф. с международным участием*. Кн. 2. Киров: ВятГУ, 2017. С. 117–122.

15. Журбицкий З.И. Теория и практика вегетационного метода. М.: Наука, 1968. 266 с.

16. Зенова Г.М., Степанова А.Л., Лихачева А.А., Манучарова Н.А. Практикум по биологии почв. М.: Издательство МГУ, 2002. 120 с.

## References

1. Andreeva O.A., Kozhevina P.A. Phytotesting methods validity for the control of microbial preparations derived from natural microbial communities // *Biodiagnostics and assessment of environmental quality: approaches, methods, criteria and reference standards in ecotoxicology*. Moskva: Geos, 2016. P. 317–318 (in Russian).

2. Andreeva O.A., Kozhevin P.A. Optimization of natural soil microbial communities as way to create a microbial fertilizers // Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 17. Pochvovedenie. 2014. No. 4. P. 42–45 (in Russian).
3. Gamalero E., Glick Bernard R. Mechanisms used by plant growth promoting bacteria // Bacteria in Agrobiolgy: Plant Nutrient Management. Berlin, Heidelberg, 2011. P. 17–46.
4. Lewis K., Epstein S., D'Onofrio A., Ling L.L. Uncultured microorganisms as a source of secondary metabolites // J. Antibiotics. 2010. No. 4. P. 1–9.
5. Kinkel L.L., Schlatter D.C., Bakker M.G., Arenz B.E. Streptomyces competition and co-evolution in relation to plant disease suppression // Res. in Microbiol. 2012. V. 163. P. 490–499.
6. Pankratova E.M., Trefilova L.V., Zyablykh R.Y., Ustyuzhanin I.A. Cyanobacteria *Nostoc paludosum* Kütz. as a basis for creation agronomical useful microbic associations on the example of sort *Rhizobium* bacteria // Microbiology. 2008. V. 77. No. 2. P. 266–272 (in Russian).
7. Domracheva L.I., Trefilova L.V., Kovina A.L., Gornostayeva E.A., Malygina O.N., Novokshonova N.V. Influence of ways of preseeding processing of seeds of *Lotus corniculatus* L. on viability and intensity of formation of klubenk // Theoretical and Applied Ecology. 2014. No. 3. P. 67–72 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2014-3-067-072.
8. Malygina O.N., Kozylybayeva D.V., Domracheva L.I., Trefilova L.V., Kovina A.L., Tovstik E.V. Influence of an introduction to the soil of different microorganisms on the number of rizosfernymicroflora of lyadvenets of horned (*Lotus corniculatus*) // Biodiagnostika of a status of natural and natural and technogenic systems: Materialy XV Vseros. nauch.-prakt. konf. s mezhdunar. uchastiem. Kn. 2. Kirov, 2017. P. 92–97 (in Russian).
9. Domracheva L.I., Trefilova L.V., Kovina A.L., Gornostayeva E.A., Kazakova D.V., Subbotina E.S. Microbic introduction and status of soil native microflora // Theoretical and Applied Ecology. 2015. No. 2. P. 55–59 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2015-2-042-055-059.
10. Sukhovitskaya L.A., Safronova G.V., Klyshko G.M., Korolenok N.V. Survival of *Rhizobium* in monoculture and binary population with rhizospere bacteria // Applied biochemistry and microbiology. 2002. V. 38. No. 1. P. 73–78 (in Russian).
11. Technology of cultivation of lyadvenets horned (*Lotus corniculatus* L.) on a forage and seeds (under the general editorship of to. agricultural sciences of M.I. Tumasova). Kirov, 2003. 39 p. (in Russian).
12. Gayfutdinova A.R., Domracheva L.I., Trefilova L.V. Perspectives of use of *Fischerella muscicola* and azide of sodium for suppression of development of *Fusarium solani* // Theoretical and Applied Ecology. 2013. No. 2. P. 124–128 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2013-2-124-128.
13. Shirokikh I.G., Kozlova L.M., Shirokikh A.A., Popov F.A., Tovstik E.V. Influence of the method of soil treatment and biological products on the complexes of micromycetes in the rhizosphere and rhizoplane of spring wheat // Pochvovedenie. 2017. No. 7. P. 837–843 (in Russian).
14. Kozylybayeva D.V., Malygina O.N., Trefilova L.V., Kovina A.L., Domracheva L.I., Tovstik E.V. Influence of a bacterial inokulyation of seeds of lyadvenets of horned (*Lotus corniculatus*) on morphometric indicators // Biodiagnostika of a status of natural and natural and technogenic systems: Materialy KhV Vserossiyskoy nauch.-prakt. konf. s mezhdunarodnym uchastiem. Kn. 2. Kirov: VyatGU, 2017. P. 117–122 (in Russian).
15. Zhurbetski Z.I. Theory and practice of vegetation method. Moskva: Science, 1968. 266 p. (in Russian).
16. Zenova G.M., Stepanova A.L., Likhacheva A.A., Manucharova N.A. Workshop on biology of soils. Moskva: MGU, 2002. 120 p. (in Russian).