

УДК: 579.64, 631.427.4, 631.461.51

Характеристика микрофлоры засоленных почв Армении

Келешян Сусанна Казаровна

НПЦ «Армбиотехнология» НАН РА

Адрес: 0056, Республика Армения, город Ереван, ул. Гюрджяна, д. 14

E-mail: susannaqeleshyan@mail.ru

Карапетян Жанета Владимировна

НПЦ «Армбиотехнология» НАН РА

Адрес: 0056, Республика Армения, город Ереван, ул. Гюрджяна, д. 14

E-mail: zhankarapet@gmail.com

Топлакалцян Анна Геворговна

НПЦ «Армбиотехнология» НАН РА

Адрес: 0056, Республика Армения, город Ереван, ул. Гюрджяна, д. 14

E-mail: anna.toplaghaltsyan@gmail.com

Аветисова Гаяне Ервандовна

НПЦ «Армбиотехнология» НАН РА; Ереванский Государственный Университет

Адрес: 0056, Республика Армения, город Ереван, ул. Гюрджяна, д. 14

E-mail: gavetisova@yahoo.com

Лусине Оганесовна Мелконян

НПЦ «Армбиотехнология» НАН РА; Ереванский Государственный Университет

Адрес: 0056, Республика Армения, город Ереван, ул. Гюрджяна, д. 14

E-mail: lusine_melk@yahoo.com

Ваге Тариелович Кочикян

НПЦ «Армбиотехнология» НАН РА

Адрес: 0056, Республика Армения, город Ереван, ул. Гюрджяна, д. 14

E-mail: vahe-ghochikyan@yandex.ru

Рекультивация засоленных земель является одной из самых актуальных проблем сельского хозяйства Республики Армения. На современном этапе в вопросе их восстановления немаловажную роль играют биотехнологические методы, в частности, использование биологических удобрений на основе осмотолерантных азотфиксирующих микроорганизмов, устойчивых к высоким концентрациям NaCl. Целью настоящей работы было выделение галофильных бактерий из засоленных земель некоторых регионов Армении, изучение и характеристика этих бактерий с последующим созданием на их основе эффективного биоудобрения, способствующего рекультивации засоленных посевных площадей. Почвенные пробы отбирали из засоленных земель сел Мргашат, Егегнут, Гай (Армавирская область) и Ранчпар, Сис, Сипаник (Араратская область), солевой состав которых был изучен в процессе работы. В пробах был определен как общий титр микроорганизмов, так и титр азотфиксирующих бактерий на соответствующих селективных средах. Из образцов было выделено двадцать пять чистых культур бактерий и были изучены их морфо-физиологические и биохимические свойства, а также их азотфиксирующая активность. В результате было отобрано семь культур, обладающих сравнительно высокой азотфиксирующей активностью, а также устойчивостью к различным факторам внешней среды, в частности, к высоким концентрациям NaCl, щелочным значениям pH и к резким температурным перепадам. После соответствующего филогенетического анализа, отобранные культуры могут стать потенциальным объектом для создания комплексного биологического удобрения, способствующего восстановлению засушливых и засоленных земель и повышению их плодородия.

Ключевые слова: почва, засоленность, деградация, галофильные бактерии, азотфиксация, биоудобрение, рекультивация

Традиционно качество почвы оценивали с точки зрения ее производительности, но в последнее время стали учитывать также способность почвы поглощать, хранить и перерабатывать воду, минералы и энергию таким образом, что даже при ее активном использовании экологическая деградация может быть минимизирована. Как известно снижение качества почвы является результатом неблагоприятных изменений ее физических, химических и биологических свойств.

Процессы деградации почв представляют собой глобальную проблему со значительными экологическими, социальными и экономическими последствиями. По мере того как увеличивается численность мирового населения, возрастает необходимость защиты почвы как жизненно важного ресурса, обеспечивающего производство продуктов питания.

Одной из основных проблем сельского хозяйства, особенно в орошаемой земледелии, является процесс засоления почв. По оценкам департамента ООН по сельскому хозяйству из 250 млн га орошаемых земель Земного шара 50% уже засолены и еще 10 млн га ежегодно по этой же причине опустыниваются. В среднем урожайность многих сельскохозяйственных культур снижается на мало засоленных почвах на 20-25%, на средnezасоленных - 40-50% и на сильно засоленных – 70-75%. Сильнозасоленная почва может привести даже к уничтожению выращиваемых сельскохозяйственных культур (Онищук и др., 2009, с.77-82).

В сложном комплексе исследований почвенных процессов особое значение имеют биологические подходы. В связи с этим характеристика биологической активности почв имеет особое значение, так как это дает возможность познать направленность и интенсивность происходящих биологических процессов, а также оценить возможности рекультивации деградированных почв. (Тераносян et al., 2015; Тераносян, 2016, р.83-87).

Почва, как естественная среда, характеризуется большой плотностью заселения разнообразными микроорганизмами, выполняющими различные функции. Многочисленные исследования показали пагубное влияние засоленности на физиологическую активность микробных сообществ почвы. (Maganhotto de Souza Silva, 2014; Онищук и др., 2009, с.77-82; Тераносян, 2016, р.83-87).

В деле повышения плодородия почвы основная роль принадлежит биологическому фактору -

активности и направленности происходящих в ней микробиологических процессов.

В настоящее время во всем мире для улучшения качества почвы, в частности, засоленной, и для увеличения урожайности сельскохозяйственных культур используются симбиотические (роды *Rhizobium* sp., *Bradyrhizobium* sp. и *Mesorhizobium* sp.) и несимбиотические (роды *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Azotobacter* sp., *Azospirillum* sp. и *Azomonas* sp.) азотфиксирующие бактерии. (Avetisova, 2013; Avetisova et al., 2014; Mayak, Tirosh & Glick, 2004, p. 525-530; Mayak, Tirosh & Glick, 2008, p. 565-572; Melkonyan et al., 2016, с. 65-68; Melkonyan et al., 2017, p. 337).

В литературных источниках приводятся многочисленные свидетельства того что использование азотфиксирующих бактерий, выделенных из галофильных почв, в составе биоудобрений положительно влияет на процесс восстановления засоленных земель, а также на рост и развитие растений (Egamberdieva & Kucharova, 2009, Raju et al., 1999, Saharan & Nehra, 2011).

Рекультивация засоленных земель весьма актуальна для Армении, поскольку в настоящее время процесс засоления и опустынивания пахотных площадей сильно ускорился.

Учитывая выше сказанное, целью настоящей работы было выделение азотфиксирующих бактерий из засоленных земель некоторых районов Армении, изучение и характеристика этих бактерий с последующим созданием на их основе эффективного биоудобрения, способствующего рекультивации засоленных посевных площадей.

Исследование

В качестве контроля в работе использовали ранее выделенные нами микробные культуры родов *Azotobacter*, *Rhizobium* и *Pseudomonas* sp.

Культуры выращивали в мясо-пептонном бульоне (МПБ) и на мясо-пептонном агаре (МПА), используемых в качестве полноценных питательных сред (г/л): пептон сухой ферментативный - 10,0; мясной экстракт - 11,0; хлорид натрия - 5,0. рН – 7,1-7,4. В случае МПА в среду добавляется 12,0 г/л агар-агара. В качестве минимальной селективной среды для отбора азотфиксирующих бактерий использовали агаризованную среду Эшби (г/л): сахара - 20,0; K_2HPO_4 - 0,2; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,2; NaCl - 0,2; K_2SO_4 -

0,1; CaCO₃ - 5,0; agar-agar - 15,0. pH - 7,0 – 7,5.

Определение азотфиксирующей активности

Азотфиксирующую активность почвенных культур проводили полуколичественным методом, с использованием индикаторной среды NFB следующего состава (г/л) : DL – малеиновая к-та - 5,0; KOH - 4,0; K₂HPO₄ - 0, 5; FeSO₄.7H₂O - 0,05; MnSO₄.5H₂O - 0,01; MgSO₄.7H₂O - 0,1; NaCl - 0,02; CaCl₂.2H₂O - 0,01; Na₂MoO₄.2H₂O - 0,002; agar-agar - 1,75. В среду добавляли 2 мл 0,5% спиртового индикаторного раствора бромтимолового синего (БТВ). (Mokula & Charyulu, 2012, p. 213-218). Метод основан на том, что индикаторная среда с БТВ, под воздействием выделяющегося в процессе роста культуры аммиака, приобретает разные оттенки синего цвета. По интенсивности окраски оценивается степень азотфиксирующей активности проверяемых культур.

Окраска микробных культур методом Грама

Суспензию культур наносили на покровное стекло и высушивали над огнем. На зафиксированный препарат через фильтровальную бумагу наносили каплю раствора генциана фиолетового и оставляли на 1-2 минуты. После этого бумагу с красителем снимали со стекла и препарат обрабатывали раствором Люголя в течение 1 мин. Затем раствор Люголя сливали, на препарат наносили 95% этанол, оставляли на 30 сек, отмывали водой и красили водным раствором фуксина, в течение 1-2 мин (Васильев, Золотухин, Корнеев, 2003, с.24-25).

Проверка устойчивости почвенных бактерий к высоким концентрациям NaCl

Ночные культуры почвенных бактерий капельно наносили на чашки со средой Эшби, содержащей разные концентрации NaCl, в интервале от 3-х до 10-ти процентов и выращивали при температуре 30 °С в течение 48 ч с последующей оценкой роста.

Проверка выживаемости почвенных культур в условиях низких и высоких температур

Суспензии проверяемых культур в пробирках со средой МПБ помещали в условия с разными температурными режимами. В случае проверки выживаемости при минусовых температурах пробирки на 24 часа помещали в холод в диапазоне от -30°С до 0°С, после чего переносили в термостат с температурой 30°С и оставляли на 48 часов, с дальнейшей регистрацией наличия или отсутствия роста. Проверку выживаемости при высоких температурах проводили таким же образом, с той разницей, что пробирки на 30 мин помещали в ультратермостат при температуре в

диапазоне от 30°С до 70°С.

Проверка роста почвенных культур при разных значениях pH

Суспензии проверяемых культур капельно наносили на среду МПА с разными значениями pH в диапазоне от 3 до 12 и выращивали в термостате при температуре 30 °С в течение 48 ч с последующей оценкой роста.

Результаты и их обсуждение

За последние годы качество обрабатываемых земель в Армении заметно снизилось. Особенно большое беспокойство вызывает ускорение процесса солинизации почвы. Известно, что в процессе восстановления почвы важным фактором является использование биоудобрений, основой которых являются азотфиксирующие бактерии. Однако жизнедеятельность азотфиксирующих бактерий, выделенных из обычной почвы, в условиях солинизации крайне затруднена, а в случае сильного засоления эти бактерии не растут вообще. Азотфиксирующие бактерии, живущие в засоленных почвах изначально адаптированы к высокой концентрации солей и, как следствие, осмотолерантны. Поэтому наиболее эффективной основой для создания биоудобрения для рекультивации засоленных земель являются осмотолерантные азотфиксаторы, выделенные из засоленных почв.

Для выделения осмотолерантных азотфиксирующих бактерий отбирали пробы из засоленных земель сел Мргашат, Егегнут, Гай (Армавирская область), Ранчпар, Сис и Сипаник (Арагатская область). Села были выбраны на основании карты почв разных областей Армении, сделанной с помощью специальной космической аппаратуры (Digital Globe Co., 2017).

Отобранные почвенные пробы были проанализированы в научном центре почвоведения, агрохимии и мелиорации РА с целью определения их солевого состава (Табл. 1).

Данные, представленные в табл.1, свидетельствуют о том, что отобранные в селах Гай и Сипаник образцы почвы можно охарактеризовать как слабо засоленные, поскольку количество ионов Na⁺, K⁺, Mg²⁺, Ca²⁺, Cl⁻, CO₃²⁻, HCO₃⁻, SO₄²⁻ находится на уровне известных из литературы стандартов. (Krasilnikov, Konyushkova, Vargas, 2016; Вальков, Казеев, Колесников, 2004, с.34-44). В то же время,

образцы почв из остальных 4-х сел относятся к засоленным (Мргашат, Егегнут) и сильно засоленным (Ранчпар, Сис). При этом рН почв колебался в пределах 9,2- 10,2, а общий процент содержания солей превышал норму от 6-ти до 8-ми раз.

В почвенных образцах, отобранных на глубине 15-20 см, определяли количество микроорганизмов. Для этого 1г почвы разводили в 100 мл стерильной воды, а затем титровали на полноценной агаризованной среде МПА и на синтетической селективной среде Эшби (Васильев, Золотухин, Корнеев, 2003, с. 83-84). Выращивали в термостате при температуре 30° в течение 48 часов (табл.2).

Из таблицы 2 видно, что в почвенных образцах из сел Гай и Сипаник количество микроорганизмов достаточно большое, общий титр составляет более 1 миллиарда клеток в 1 мл суспензии, а титр азотфиксирующих – более миллиона. Такой высокий титр микроорганизмов по-видимому объясняется тем, что их рост не подавлялся высоким содержанием солей, поскольку эти почвы относятся к слабо засоленным (таб.1). В остальных почвенных образцах, которые характеризовались как засоленные или сильно засоленные, общий титр микроорганизмов был значительно ниже – от 10⁶ до 10⁷ кл/мл, а титр азотфиксирующих – от 10² до 10³.

Из выросших микроорганизмов были выделены чистые культуры азотфиксирующих бактерий и изучены их физиолого-биохимические свойства.

Далее в тексте представлены наиболее перспективные, с точки зрения азотфиксации, представители этих культур, которые были условно обозначены в соответствии с местом отбора проб: Мргашат-1 (М-1), Мргашат-2 (М-2), Мргашат-3 (М-3), Егегнут-1 (Е-1), Егегнут-2 (Е-2), Гай-1 (Г-1), Гай-2 (Г-2), Ранчпар-1 (Р-1), Сис-1 (С-1), Сипаник-1 (Сп-1).

Определение способности вышеперечисленных культур фиксировать атмосферный азот проводили полуколичественным методом с использованием индикаторной среды NFB, содержащей ВТВ краситель (Mokula & Charyulu, 2012, р. 213-218). В процессе роста культур выделяется аммиак, придающий индикаторной среде разные оттенки синего цвета. По интенсивности окраски можно судить о степени азотфиксирующей активности проверяемых культур. Контролем служили азотфиксирующие штаммы *Rhizobium* sp. и *Azotobacter* sp.

Из представленных в таблице 3 результатов видно, что по признаку азотфиксирующей активности лучшими являются культуры Е-2, Р-1 и Сп-1, из которых Сп-1 был выделен из слабо засоленной почвы, а Е-2 и Р-1 – из сильно засоленной.

Таблица 1
Солевой состав почвенных образцов из разных сел Армении

Село	рН	Соли Na, Ca, Mg, %	% / мг экв в 100 г почвы							Заменяемые	
			CO ₃ ²⁻	HCO ₃ ⁻	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na ⁺ +K ⁺	Na	K
Мргашат	9.8	1.785	0.120 4.00	0.337 5.53	0.210 5.92	0.672 14.00	0.010 0.50	0.021 1.68	0.535 23.27	13,4	3,1
Егегнут	9.2	2.141	0.072 2.40	0.159 2.61	0.720 20,30	0.500 10,41	0.010 0,50	0.004 0,32	0.778 32,50	11,0	3,5
Гай	7.8	0.200	-	0,061 1,00	0,018 0,51	0,061 1,27	0,024 1,20	0,001 0,08	0,035 1,50	4,0	2,2
Ранчпар	10.2	2.303	0,163 5,43	0,439 7,20	0,850 24,00	0,167 3,48	0,022 1,10	0,001 0,08	0,770 33,50	14,8	1,4
Сис	9.8	2.492	0,240 7,91	0,519 8,50	0,959 27,40	0,131 2,74	0,020 1,00	0,003 0,24	0,860 37,40	13,6	1,4
Сипаник	7.8	0.300	-	0,032 0,52	0,106 2,99	0,060 1,25	0,035 1,75	0,003 0,24	0,064 2,77	4,5	2,2

Таблица 2
Титр микроорганизмов в исследуемых почвенных образцах

Состояние почвы	Место отбора пробы	Характеристика почвы	Количество микроорганизмов, кл/мл	
			Общий титр на среде МПА	Титр азотфиксирующих бактерий на среде Эшби
Старая окультуренная почва	Мргашат	Засоленная	$4,5 \cdot 10^7$	$2,5 \cdot 10^5$
Старая окультуренная почва	Егегнут	Засоленная	$6,3 \cdot 10^7$	$5,6 \cdot 10^5$
Вновь окультуренная почва	Гай	Слабо засоленная	$2,1 \cdot 10^9$	$2,7 \cdot 10^6$
Целина	Ранчпар	Сильно засоленная	$1,3 \cdot 10^6$	$1,3 \cdot 10^2$
Целина	Сис	Сильно засоленная	$2,3 \cdot 10^6$	$1,2 \cdot 10^2$
Вновь окультуренная почва	Сипаник	Слабо засоленная	$4,6 \cdot 10^9$	$6,8 \cdot 10^6$

На следующем этапе исследований, вышеописанные культуры окрашивали методом Грама (Васильев, Золотухин, Корнеев, 2003, с.24-25), для определения их принадлежности к грамотрицательным или грамположительным бактериям. Все окрашенные бактерии оказались грамотрицательными, кроме Г-2 и М-2, которые окрашивались как грамположительные. Однако известно, что почти все грамположительные азотфиксирующие бактерии относятся к условно-

патогенным микроорганизмам и поэтому не могут быть использованы для создания биодобрения. По этой причине в последующих опытах по изучению физиолого-биохимических свойств выделенных из почвы микроорганизмов культуры Г-2 и М-2 не проверялись. После микроскопирования почти все проверяемые культуры, согласно морфологии, были отнесены к *Rhizobium* sp. (рис. 1(A)), кроме С-1 и Сп-1, которые выглядели как *Azotobacter* sp (рис. 1(B)). На рисунке 1 представлены по одному из образцов проверенных культур.

Таблица 3
Азотфиксирующая активность почвенных бактериальных культур

Бактерии	Азотфиксирующая активность*
<i>Rhizobium</i> sp.	+++
<i>Azotobacter</i> sp.	+++
М-1	++++
М-2	+++
М-3	++++
Е-1	+++
Е-2	+++++
Г-1	++++
Г-2	+++
Р-1	+++++
С-1	++++
Сп-1	+++++

* (++) – среднее окрашивание, (++++/+++++) – сильное окрашивание

После первичной идентификации определяли

Таблица 4
Результаты роста почвенных культур на средах с разными концентрациями NaCl

Бактерии	Концентрация NaCl (%)					
	3	5	6	7	8	10
<i>Rhizobium</i> sp.	+*	-	-	-	-	-
<i>Azotobacter</i> sp.	+	-	-	-	-	-
М-1	+	+	+	-	-	-
М-3	+	-	-	-	-	-
Е-1	+	+	+	±	-	-
Е-2	+	+	+	±	-	-
Г-1	+	±	-	-	-	-
Р-1	+	+	+	+	±	-
С-1	+	+	+	+	±	-
Сп-1	+	±	-	-	-	-

* (-) – отсутствие роста, (±) – слабый рост, (+) – хороший рост.

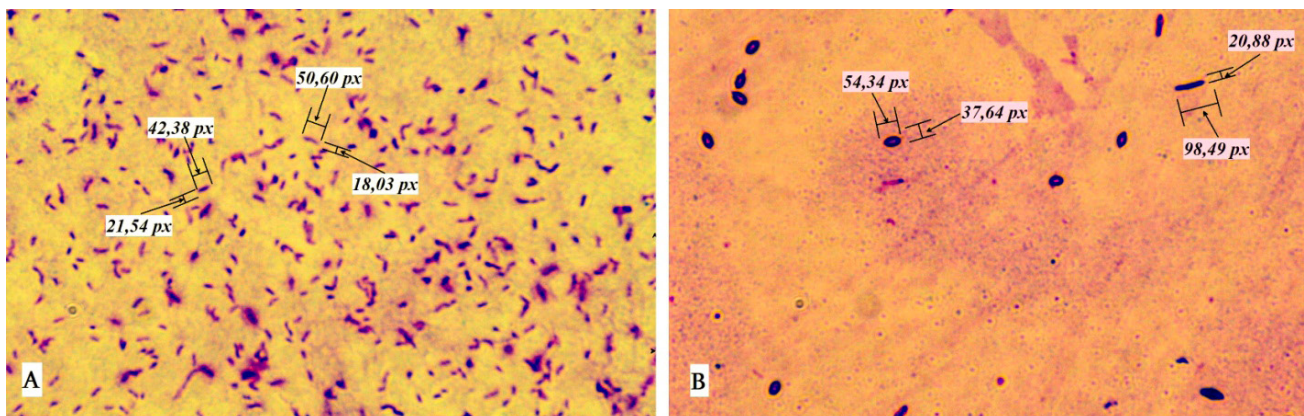


Рисунок 1. Представители почвенных культур окрашенных по методу Грама: (А) – культура Е-2 (подобная *Rhizobium* sp.), (В) – культура М-3 (подобная *Azotobacter* sp.)

осмотолерантность отобранных культур посредством высева на среды, содержащие разные концентрации NaCl (табл. 4).

Из таблицы видно, что наиболее устойчивыми к высокому содержанию NaCl оказались культуры Р-1 и С-1, а самыми чувствительными - культуры М-3, Г-1 и Сп-1. Устойчивость культур Р-1 и С-1 к повышенному содержанию в среде NaCl (7%-8%) вполне объяснима, поскольку они были выделены из сильно засоленных почв и по-видимому изначально являлись осмотолерантными.

Результаты проверки роста выделенных бактерий на средах с разными значениями рН представлены в таблице 5. Все проверяемые культуры, кроме культур Г-1 и Сп-1, были устойчивы к изменениям рН среды и хорошо росли при проверяемых значениях в диапазоне от 6 до 10. Более того культуры Р-1 и С-1 хорошо росли также при более высоких значениях рН (11-12).

Для создания рекультивационного биоудобрения для засоленных земель в условиях резко-континентального климата Армении азотфиксирующие бактерии наряду с осмотолерантностью должны также обладать устойчивостью к температурным перепадам. Поэтому в серии опытов проверяли выживаемость культур в условиях низких и высоких температур. Из представленных результатов видно, что все проверяемые культуры как при низких температурных значениях в диапазоне от -30°C до 0°C , так и при повышении температуры, вплоть до 55°C сохранили свою жизнеспособность. Однако при дальнейшем повышении температуры до 65°C жизнеспособность сохраняли только культуры М-1, Р-1 и С-1 (Табл. 6).

Выводы

Проведенные в настоящей работе исследования микрофлоры засоленных почв некоторых регионов Армении позволили отобрать 7 азотфиксирующих штаммов, которые, в силу их осмотолерантности, устойчивости к высоким значениям рН и резким температурным перепадам, могут быть успешно использованы для создания эффективного комплексного биологического удобрения. Последующий запланированный нами филогенетический анализ этих штаммов позволит учесть их видовую принадлежность при разработке технологии получения биоудобрения. Производство и применение подобного биопрепарата будет способствовать не только восстановлению засушливых и засоленных земель и повышению их плодородия, но и повышению урожайности и улучшению качественных показателей выращиваемых культур.

Благодарности

Благодарим Государственный комитет по науке Армении за поддержку представленной работы в рамках Армяно-Белорусского международного проекта АБ16-52 РА МОН ГКН – ФФИРБ – 2016 (2017-2019).

Благодарим доктора биологических наук Вигена А. Папinyана за помощь в анализе почвенных образцов в Научном центре почвоведения, агрохимии и мелиорации РА.

Таблица 5
Рост выделенных культур при разных значениях pH среды

Бактерии \ pH	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
RHIZOBIUM SP.	-*	-	+	+	+	+	+	+	-	-
AZOTOBACTER SP.	-	-	+	+	+	+	±	-	-	-
М-1	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-
М-3	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
Е-1	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
Е-2	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
Г-1	-	-	-	+	+	+	+	±	-	-
Р-1	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
С-1	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Сп-1	-	-	-	+	+	+	+	±	-	-

* (+)–хороший рост; (±)–слабый рост, (-)–отсутствие роста.

Таблица 6
Устойчивость отобранных культур к низким и высоким температурам

Бактерии	Температура, °С											
	-30	-25	-20	-10	0	30	45	50	55	60	65	70
Rh. sp.	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Az. sp.	±	+	+	+	+	+	+	±	-	-	-	-
М-1	±	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	+
М-3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Е-1	+	+	+	+	+	+	+	+	±	-	-	-
Е-2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	-	-
Г-1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Р-1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	-
С-1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	-
Сп-1	±	±	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-

* (-) – отсутствие роста, (±) – средний рост, (+) – хороший рост

Литература

- Вальков В. Ф., Казеев К. Ш., Колесников С. И. Экология почв: разрушение почв, дегумификация, нарушение водного и химического режима почв. Ростов-на-Дону. 2004.
- Васильев Д. А., Золотухин С. Н. Корнеев Е. А. Руководство к практическим занятиям по микробиологии. Ульяновск. 2003.
- П. Онищук, М. Л. Румянцева, Н. А. Проворов, Б. В. Симаров. Изменчивость штаммов *Sinorhizobium meliloti* по признакам, определяющим сапрофитную выживаемость и симбиотическую эффективность в условиях засоления. Сельскохозяйственная биология. 2009. N1. С. 77-82.
- Avetisova G.Ye. RA Patent No. 2713A. Yerevan. 2013.
- Avetisova G.Ye., L.H. Melkonyan, A.Kh. Chakhalyan, S.Gh. Keleshyan, Zh.V. Karapetyan, A.S. Saghyan. New complex nitrogen biofertilizer for agriculture // International Conference “Translational Biocatalysis”. RSC, Burlington House, London, UK. 2014. p. 12.
- DigitalGlobe Co. (Cartographer). Satellite map. Retrieved from <https://www.google.com/maps/@40.1760256,44.52352,9261m/data=!3m1!1e3>. 2017.
- Egamberdieva D., Kucharova Z. Selection for root colonising bacteria stimulating wheat growth in saline soils. Biology and fertility of soils. 2009. 45(6). p. 563-571.
- Krasilnikov P., Konyushkova M., Vargas R. Land resources and food security of Central Asia and Southern Caucasus. Rome: Food and Agriculture ORGANIZATION of the United Nations. 2016.
- Maganhotto de Souza Silva. Soil health and land use management: Effect of salinity of soil

- microorganisms. Retrieved from https://www.researchgate.net/publication/221922968_Effect_of_Salinity_on_Soil_Microorganisms. 2014.
- Mayak S., Tirosch T., Glick B. Plant growth – promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomatoes and peppers. *Plant Science*. 2004. 166 (2). p.525-530.
- Mayak S., Tirosch T., Glick B. Plant growth – promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2008. 42(6). p. 565-572.
- Melkonyan L. H., Tepanosyan G. H., Avetisova G. Ye., Chakhalyan A. Kh., Keleshyan S. Gh. & Karapetyan Zh.V. The nitrogen-fixing strain for biopreparation. *Biological Journal of Armenia*. 2016. 68. p. 65-68.
- Melkonyan L., Avetisova G., Chakhalyan A., Keleshyan S., Karapetyan Zh., Stepanyan S., Toplaghalsyan A. & Saghyan A. Biotechnological approaches for obtaining of new complex biopreparation for organic agriculture. 7th Congress of European Microbiologists (FEMS). Valencia, 337. 2017.
- Mokula Md. Raffi & Charyulu P. B. B. N. Nitrogen fixation by the native *Azospirillum* spp. isolated from rhizosphere and non- rhizosphere of foxtail millet. *Asian J. Biol. Life Sci*. 2012. 1(3). p. 213-218.
- Raju N.S., Niranjana S.R., Janardhana G.R., Prakash H.S., Shetty H.S., Mathur S.B. Improvement of seed quality and fields emergence of *Fusarium moniliforme* infected sorghum seed using biological agents. *Journal of Science of Food and Agriculture*. 1999. 79(2). p. 206-212.
- Saharan B. & Nehra V. Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. *LifeSciMedRes*. 2011. 21, p. 1-30.
- Tepanosyan G.H., Avetisova G.Ye., Melkonyan L.H., Chakhalyan A.Kh. Degradation degree of pasture soils and their microbiological characterization. 3rd International Scientific Conference of Young Researchers “Dialogues on Sciences”. Yerevan. 2015. p. 95.
- Tepanosyan G. H. Isolation of nitrogen-fixing microorganisms from the degraded pasture soils. *Biological journal of Armenia*. 2016. 68 (SI). p.83-87.
- Vargas R., Pankova E., Balyuk S., Krasilnikov P., Khasankhanova G. Handbook for saline soil management. Food and Agriculture Organization of the United Nations and Lomonosov Moscow State University. 2018.

Characteristics of the Microflora of Saline Soils of Armenia

Susanna Gh. Keleshyan

*SPC "Armbiotechnology" SNPO NAS RA
14 Gyurjyan Str., 0056 Yerevan, Armenia
E-mail: susannaqeleshyan@mail.ru*

Zhaneta V. Karapetyan

*SPC "Armbiotechnology" SNPO NAS RA
14 Gyurjyan Str., 0056 Yerevan, Armenia
E-mail: zhankarapet@gmail.com*

Anna G. Toplaghaltsyan

*SPC "Armbiotechnology" SNPO NAS RA
14 Gyurjyan Str., 0056 Yerevan, Armenia
E-mail: anna.toplaghaltsyan@gmail.com*

Gayane Ye. Avetisova

*SPC "Armbiotechnology" SNPO NAS RA; Yerevan State University
14 Gyurjyan Str., 0056 Yerevan, Armenia
E-mail: gavetisova@yahoo.com*

Lusine H. Melkonyan

*SPC "Armbiotechnology" SNPO NAS RA; Yerevan State University
14 Gyurjyan Str., 0056 Yerevan, Armenia
E-mail: lusine_melk@yahoo.com*

Vahe T. Ghochikyan

*SPC "Armbiotechnology" SNPO NAS RA
14 Gyurjyan Str., 0056 Yerevan, Armenia
E-mail: vahe-ghochikyan@yandex.ru*

Recultivation of saline lands is one of the most urgent problems of agriculture in the Republic of Armenia. The biotechnological methods, in particular the use of biological fertilizers on the base of osmotolerant nitrogen-fixing microorganisms resistant to high concentrations of NaCl, play an important role at the present stage of land restoration. The purpose of this work was to isolate halophilic bacteria from the saline lands of some regions of Armenia, to study and characterize these bacteria, and then to create effective biofertilizer on their basis that promotes recultivation of saline areas. The salt composition of soil samples taken from the saline lands of the villages of Mrgashat, Yeghegnut, Gai (Armar region), Ranchpar, Sis and Sipanik (Ararat region) was studied during the project. In samples, both the total titer of microorganisms and the titre of nitrogen-fixing bacteria were determined in the respective selective media. Twenty five pure cultures of bacteria were isolated from the samples, and their morphological-physiological and biochemical properties, as well as their nitrogen-fixing activity were studied. As a result, we selected eight cultures with relatively high nitrogen-fixing activity, as well as with resistance to various environmental factors, in particular, to high NaCl concentrations, alkaline pH values and to sharp temperature changes. After an appropriate phylogenetic analysis, the selected cultures can become a potential object for the creation of an integrated biological fertilizer that will promote the restoration of arid and saline lands and the increase of their fertility.

Keywords: soil, salinity, degradation, halophilic bacteria, nitrogen-fixation, biofertilizer, recultivation

Acknowledgments

We thank to Science Committee MES RA for supported by grant from the Armenian-Belarussian International Project AB16-52 RA MES SCS - BRFFR – 2016 (2017-2019).

We thank to Vigen A. Papinyan from the Soil Science, Melioration and Agrochemistry Scientific Center of the Republic of Armenia for assistance in studying the salt composition of the soil samples.

Reference

- Вальков В.Ф., Казеев К.Ш., Колесников С.И. Экология почв: разрушение почв, дегумификация, нарушение водного и химического режима почв. Ростов-на-Дону. 2004.
- Васильев Д.А., Золотухин С.Н. Корнеев Е.А. Руководство к практическим занятиям по микробиологии. Ульяновск. 2003.
- П. Онищук, М.Л. Румянцева, Н.А. Проворов, Б.В. Симаров. Изменчивость штаммов *Sinorhizobium meliloti* по признакам, определяющим сапрофитную выживаемость и симбиотическую эффективность в условиях засоления. Сельскохозяйственная биология. 2009. N1. С.77-82.
- Avetisova G.Ye. RA Patent No. 2713A. Yerevan. 2013.
- Avetisova G.Ye., L.H. Melkonyan, A.Kh. Chakhalyan, S.Gh. Keleshyan, Zh.V. Karapetyan, A.S. Saghyan. New complex nitrogen biofertilizer for agriculture // International Conference “Translational Biocatalysis”. RSC, Burlington House, London, UK. 2014. p. 12.
- DigitalGlobe Co. (Cartographer). Satellite map. Retrieved from <https://www.google.com/maps/@40.1760256,44.52352,9261m/data=!3m1!1e3>. 2017.
- Egamberdieva D., Kucharova Z. Selection for root colonising bacteria stimulating wheat growth in saline soils. Biology and fertility of soils. 2009. 45(6). p. 563-571.
- Krasilnikov P., Konyushkova M., Vargas R. Land resources and food security of Central Asia and Southern Caucasus. Rome: Food and Agriculture ORGANIZATION of the United Nations. 2016.
- Maganhotto de Souza Silva. Soil health and land use management: Effect of salinity of soil microorganisms. Retrieved from https://www.researchgate.net/publication/221922968_Effect_of_Salinity_on_Soil_Microorganisms. 2014.
- Mayak S., Tirosch T., Glick B. Plant growth – promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomatoes and peppers. Plant Science. 2004. 166 (2). p.525-530.
- Mayak S., Tirosch T., Glick B. Plant growth – promoting bacteria confer resistance in tomato plantsto salt stress. Plant Physiology and Biochemestre. 2008. 42(6). p. 565-572.
- Melkonyan L. H., Tepanosyan G. H., Avetisova G. Ye., Chakhalyan A. Kh., Keleshyan S. Gh. & Karapetyan Zh.V. The nitrogen-fixing strain for biopreparation. Biological Journal of Armenia. 2016. 68. p. 65-68.
- Melkonyan L., Avetisova G., Chakhalyan A., Keleshyan S., Karapetyan Zh., Stepanyan S., Toplaghaltysyan A. & Saghyan A. Biotechnological approaches for obtaining of new complex biopreparation for organic agriculture. 7th Congress of European Microbiologists (FEMS). Valencia, 337. 2017.
- Mokula Md. Raffi & Charyulu P. B. B. N. Nitrogen fixation by the native *Azospirillum* spp. isolated from rhizosphere and non- rhizosphere of foxtail millet. Asian J. Biol. Life Sci. 2012. 1(3). p. 213-218.
- Raju N.S., Niranjana S.R., Janardhana G.R., Prakash H.S., Shetty H.S., Mathur S.B. Improvement of seed quality and fields emergence of *Fusarium moniliforme*infected sorghum seed using biological agents. Journal of Science of Food and Agriculture. 1999. 79(2). p. 206-212.
- Saharan B. & Nehra V. Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. LifeSciMedRes. 2011. 21, p. 1-30.
- Tepanosyan G.H., Avetisova G.Ye., Melkonyan L.H., Chakhalyan A.Kh. Degradation degree of pasture soils and their microbiological characterization. 3rd International Scientific Conference of Young Researchers “Dialogues on Sciences”.Yerevan. 2015. p. 95.
- Tepanosyan G. H. Isolation of nitrogen-fixing microorganisms from the degraded pasture soils. Biological journal of Armenia. 2016. 68 (SI). p.83-87.
- Vargas R., Pankova E., Balyuk S., Krasilnikov P., Khasankhanova G. Handbook for saline soil management. Food and Agriculture Organization of the United Nations and Lomonosov Moscow State University. 2018.