СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ БИОЛОГИЯ, 2015, том 50, № 1, с. 99-106

Микробные биопрепараты в защите и оздоровлении растений

УДК 632.4:631.147:579.64 doi: 10.15389/agrobiology.2015.1.99rus

ШТАММЫ БАКТЕРИЙ — АНТАГОНИСТОВ *Pyrenophora tritici-repentis* in vitro, ЭФФЕКТИВНЫЕ ПРОТИВ ЖЕЛТОЙ ПЯТНИСТОСТИ ЛИСТЬЕВ ПШЕНИЦЫ В ФАЗУ ВСХОДОВ В ВЕГЕТАЦИОННОМ ОПЫТЕ*

О.Ю. КРЕМНЕВА, А.М. АСАТУРОВА, М.Д. ЖАРНИКОВА, Г.В. ВОЛКОВА

Желтая пятнистость листьев относится к широко распространенным заболеваниям мягкой и твердой пшеницы. Данные литературы и собственные исследования авторов свидетельствуют, что эпифитотии болезни встречаются в разных странах (Австралия, Канада, США, Индия, Англия, Бельгия, Румыния, Чехия, Казахстан), при этом потери урожая достигают 65 %. В России заболевание наиболее распространено на Северном Кавказе. Разработка и применение новых высокоэффективных экологически безопасных биопрепаратов рассматривается как один из эффективных биологизированных подходов при защите пшеницы от этого заболевания. При поиске потенциальных бактериальных агентов для использования в качестве протективных средств их антагонистическая активность in vitro должна сопровождаться способностью обеспечить эффективную защиту семян и проростков. Мы изучили влияние бактериальных штаммов, проявивших in vitro антагонистические свойства в отношении *P. tritici-repentis* (Died.) Drechsler, на развитие желтой пятнистости на ранних этапах вегетации растений у озимой мягкой пшеницы восприимчивого к патогену сорта Батько в условиях теплицы. Были использованы шесть культур — представителей рода *Bacillus* (*Bacillus* sp. BZR 18, *B. subtilis* BZR 336 s, *B. subtilis* BZR 336 g, *B. subtilis* BZR 436, *B. subtilis* BZR 517, *B. licheniformis* BZR 59), а также *Ochrobactrum* sp. BZR 417 (коллекции Всероссийского НИИ биологической защиты растений). Для сравнения использовали фитоспорин-М (жидкость — Ж) как биопрепарат (ООО НВП «Башинком», Россия) и прозаро (концентрат эмульсии — КЭ) как химический фунгицид («Bayer CropScience», Германия). Жидкую культуру (ЖК) на основе активных штаммов применяли тремя способами: до инокуляции (профилактическая обработка), при появлении первых признаков болезни (на 3-и сут после инокуляции) и сочетая оба приема. Все обработки проводили с инкрустированием и без инкрустирования зерна ЖК на основе бактериальных штаммов. Все исследуемые бактериальные штаммы, кроме *Ochrobactrum* sp. BZR 417, проявили значительную биологическую эффективность по способности сдерживать развитие желтой пятнистости листьев у пшеницы. Так, максимальное подавление отмечали при применении *Bacillus* sp. BZR 18 (от 68,5 до 83,0 %) и *B. subtilis* BZR 517 (от 55,6 до 64,0 %) во всех вариантах, кроме обработки по первым признакам без предварительного инкрустирования зерна (в последнем случае эффективность составила соответственно 26,8 и 35,9 %), а также у *B. licheniformis* BZR 59 (от 52,6 до 68,9 % во всех вариантах). ЖК на основе штамма *B. subtilis* BZR 336 g обеспечила эффективность от 51,5 до 58,3 % во всех вариантах, кроме профилактической обработки без предварительного инкрустирования зерна с эффективностью 40,9 %. В случае штамма *B. subtilis* BZR 336 s этот показатель равнялся 60,2 и 60,3 % соответственно при обработке по первым признакам с предварительным инкрустированием зерна и при профилактическом применении совместно с обработкой по первым признакам и предварительным инкрустированием зерна; в остальных вариантах его значение равнялось от 14,7 до 44,3 %. Штамм BZR 436 *B. subtilis* проявил эффективность от 28,4 % (профилактическая обработка с предварительным инкрустированием зерна) до 73,4 % (профилактическая обработка совместно с применением по первым признакам и предварительным инкрустированием зерна). Эффективность штамма *Ochrobactrum* sp. BZR 417 не превышала 45,4 % во всех вариантах. Из использованных схем применения препаратов наиболее результативным оказалось сочетание предварительной обработки зерна с последующей профилактической обработкой и обработкой по первым признакам в зависимости от антифунгальной активности бактериального агента.

Ключевые слова: *Pyrenophora tritici-repentis*, бактерии-антагонисты, биологическая эффективность, озимая пшеница, желтая пятнистость листьев, фаза всходов.

Желтая пятнистость листьев пшеницы имеет экономически важное значение во многих регионах возделывания культуры — в Австралии, Канаде, США, Индии, Англии, Бельгии, Румынии, Чехии, Казахстане и др.

* Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации для молодых ученых — кандидатов наук № МК-3352.2012.4 и МЦП ЕврАзЭС «Инновационные биотехнологии» на 2011-2015 годы Министерства образования и науки РФ (№ 16.М04.11.0026).

(1-8). В России она наиболее распространена на Северном Кавказе. В Краснодарском крае патоген впервые обнаружен в 1985 году (9) и с тех пор отмечается ежегодно (10-12). При эпифитотийном развитии болезни потери урожая могут достигать 40-65 % (13, 14). Возбудитель этого заболевания — гомоталличный аскомицет *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechsler; несовершенная стадия *Drechslera tritici-repentis* (Died) Shoem. Патоген имеет широкий круг злаковых растений-хозяев, в числе которых как культурные, так и различные дикорастущие формы.

В настоящее время при защите растений (в том числе от желтой пятнистости листьев пшеницы) наиболее востребованы пестициды. Однако как токсичные агенты они негативно влияют на агробиоценозы, что вызывает серьезную озабоченность. Действующие ограничения на использование пестицидов стимулировали поиск альтернативных средств защиты растений, среди которых выделяются биопрепараты на основе живых культур микроорганизмов. Ассортимент биопрепаратов, для которых известна активность против фитопатогенов рода *Pyrenophora* (*Drechslera*), весьма невелик. Согласно списку пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории РФ (15), против сетчатой пятнистости ячменя (сетчатого гельминтоспориоза) рекомендованы препараты планриз, алирин Б, бактофит, гамаир, тогда как к противопиренофорозным не отнесен ни один препарат, хотя имеются данные о том, что некоторые биоконтрольные микроорганизмы обладают антифунгальной активностью в отношении как возбудителей этого заболевания, так и других представителей рода *Pyrenophora* (*Drechslera*).

Так, T. Taechowisan с соавт. (16) сообщают об антифунгальном действии 3-метилкарбазолов, продуцируемых эндофитным штаммом *Streptomyces* sp. LJK109, в отношении ряда фитопатогенов, в том числе *Drechslera* sp. Несколько штаммов *Trichoderma* spp. были протестированы аргентинскими исследователями в полевых условиях против *P. tritici-repentis* (*D. tritici-repentis*). Использование биоагентов для предпосевной обработки семян и обработки по вегетации в зависимости от условий года, способов применения и сорта пшеницы обеспечивало снижение распространения желтой пятнистости на 16-56 % (17). Те же авторы ранее выделили из микрофлоры листьев пшеницы 13 изолятов грибов, два — дрожжей и один штамм *Bacillus* (Bw/97), оказавшиеся в лабораторных тестах активными против возбудителей листовых болезней — *Alternaria triticimaculans*, *Bipolaris sorokiniana*, *Drechslera tritici-repentis* и *Septoria tritici*. Наибольшим ингибирующим эффектом в этих исследованиях обладали *Aspergillus niger*, Bw/97 и *Nigrospora sphaerica* (18). Отмечена существенная антифунгальная активность штаммов бактерий *Pseudomonas fluorescens* против грибов рода *Pyrenophora* на ячмене. Важно подчеркнуть, что эффективность применения биоагентов в экспериментах, проведенных в условиях теплицы, зависела от сроков обработки: при использовании до инокуляции патогеном протективное действие было более выраженным (19).

Биологическую активность против возбудителя желтой пятнистости также проявляет эндофитный микромицет *Chaetomium globosum*. Установлено, что культуральный фильтрат на его основе способствовал образованию внеклеточного белка и, как следствие, снижению развития желтой пятнистости на листьях пшеницы (20, 21).

В целом, однако, можно заключить, что сведения по биоконтролю заболеваний, вызываемых патогенами рода *Pyrenophora* (*Drechslera*), довольно отрывочны и немногочисленны, а рекомендованные к применению биопрепараты, как правило, не относятся к целевыми. Например, один из та-

ких препаратов — планриз, разработанный на основе *Pseudomonas fluorescens* АР-33 (Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, г. Минск), в настоящее время производится некоторыми российскими компаниями (ПО «Сиббиофарм», г. Бердск; ООО «Биотехагро», г. Тимашевск) и широко применяется на различных культурах в разных регионах страны, в том числе для борьбы с листовыми пятнистостями зерновых культур. В исследованиях В.П. Боровой (22) биологическая эффективность планриза против сетчатой пятнистости ячменя составила 82 %. Этот же автор сообщает о высокой эффективности псевдобактерина-2 на основе *Pseudomonas aureofaciens* (84 %) и бактофита на основе *Bacillus subtilis* (70 %) против указанного патогена. Из зарубежных биопрепаратов, эффективных против возбудителей рода *Pyrenophora* (*Drechslera*), можно отметить Cedomon («Bio-Agri», Швеция) на основе *Pseudomonas chlororaphis* (штамм МА 342). Его антифунгальное действие обусловлено главным образом продукций антибиотиков феназинового ряда. Препарат предназначен для борьбы с семенными инфекциями ячменя и овса и применяется для предпосевной обработки. Производитель Cedomon утверждает, что на ячмене такая обработка более эффективна, чем применение химических протравителей — Fungazil A, Panoctine Plus 400, Cevex 300, Robust (23-25).

Наряду с антагонистической активностью in vitro важным свойством потенциальных протективных биоагентов служит способность обеспечивать эффективную защиту семян и проростков.

В этой связи в вегетационном опыте в условиях теплицы мы изучили влияние бактериальных штаммов, проявивших антагонистические свойства в отношении *Pyrenophora tritici-repentis* in vitro, на развитие желтой пятнистости у растений пшеницы в фазу проростков.

Методика. Объектами изучения служили семь перспективных бактериальных штаммов из коллекций микроорганизмов Всероссийского НИИ биологической защиты растений, проявляющих антагонистические свойства по отношению к возбудителям фузариоза *Fusarium graminiarum* Schwabe и *F. culmorum* (Sm.) Sacc. и желтой пятнистости листьев пшеницы (*Pyrenophora tritici-repentis*) in vitro (26-28). Из исследуемых штаммов шесть относились к роду *Bacillus* (*Bacillus* sp. BZR 18, *B. subtilis* BZR 336 s, *B. subtilis* BZR 336 g, *B. subtilis* BZR 436, *B. subtilis* BZR 517, *B. licheniformis* BZR 59), один — к роду *Ochrobactrum* (*Ochrobactrum* sp. BZR 417).

Растения озимой мягкой пшеницы восприимчивого к патогену сорта Батько выращивали в условиях теплицы (при естественном освещении, температура 20-24 °С) методом гидропоники с использованием раствора Кнопа до фазы 2 листьев и заражали вирулентными изолятами *P. tritici-repentis* из коллекции Всероссийского НИИ биологической защиты растений, используя водную споровую суспензию с плотностью 5×10^3 конидий/мл.

Обработку жидкой культурой (ЖК) на основе штаммов-антагонистов проводили тремя способами: 1 — до инокуляции (профилактическая обработка), 2 — при появлении первых признаков болезни (на 3-и сут после инокуляции), 3 — профилактическая обработка и применение препарата по первым признакам развития заболевания. Эти обработки проводили в двух вариантах — с инкрустированием зерна ЖК на основе бактериальных штаммов и без инкрустирования. Норма расхода ЖК на основе перспективных штаммов составляла от 1 до 3 л/га. В качестве химического стандарта использовали фунгицид прозаро (концентрат эмульсии — КЭ, 0,6 л/га) («Bayer CropScience», Германия), биологического — фитоспорин-М (жидкость — Ж, 1 л/га) (ООО НВП «Башинком», Россия). В

каждом варианте опыта учитывали по 50 растений. Развитие болезни на зараженных и обработанных бактериальной ЖК растениях сравнивали с контролем (без обработки). Подсчитывали число пятен, оценивали тип реакции по 5-балльной шкале Rees et al. (1987) и процент развития болезни (2) на одном растении на 7-е сут после инокуляции. Биологическую эффективность рассчитывали по формуле Эббота (29).

Статистическую обработку проводили с использованием стандартной компьютерной программы Microsoft Excel.

Результаты. Снижение балльной оценки типа реакции позволяет оценить степень подавления колонизации растительных тканей грибным патогеном, уменьшение числа пятен характеризует способность бактериальных штаммов подавлять инфекцию *P. tritici-repentis* на растениях, а изменение процента развития болезни отражает возможность ограничивать инфицирование и развитие патогена в растениях.

При поражении среднее число пятен на одно растение в контрольном варианте (без обработки) составило 15,6 шт., тип реакции при развитии болезни — 4,6 балла, развитие болезни — 26,4 % (табл. 1).

1. Характеристика защитного действия штаммов, проявлявших in vitro антагонизм в отношении *Pyrenophora tritici-repentis*, на растениях пшеницы восприимчивого сорта Батько в фазу всходов в условиях теплицы ($X \pm s$)

Штамм-антагонист, препарат	Вариант обработки					
	профилактическая		по первым признакам заболевания		профилактическая + по первым признакам заболевания	
	1	2	1	2	1	2
Число пятен на одном растении, шт.						
Bacillus sp. BZR 18	6,1±1,2	7,8±1,2	5,7±0,9	12,5±1,4	6,2±1,1	7,3±0,9
Bacillus subtilis:						
BZR 436	10,9±1,8	8,8±1,2	9,6±1,2	9,1±1,3	6,8±1,8	10,4±1,5
BZR 517	4,5±1,1	7,5±1,7	10,2±1,1	12,4±1,7	8,8±1,9	9,7±1,2
BZR 336 s	10,1±1,0	10,8±1,5	8,0±1,3	12,3±2,1	8,5±1,3	10,1±1,1
BZR 336 g	9,0±1,1	9,5±1,7	7,2±1,5	8,4±1,8	13,3±1,4	11,8±1,3
B. licheniformis BZR 59	9,4±1,2	10,3±1,1	7,0±1,3	6,7±1,1	8,2±1,5	7,9±0,9
Ochrobactrum sp. BZR 417	10,5±1,9	10,5±1,1	11,9±1,8	12,3±1,7	10,1±1,1	10,3±1,1
Фитоспорин-М, Ж	7,7±0,9	10,5±1,2	9,7±1,4	8,3±1,3	7,9±1,1	11,3±1,4
Прозаро, КЭ	–	4,3±1,0	–	6,9±1,1	–	4,3±1,1
Контроль (без обработки)	15,6±1,8	15,6±1,8	15,6±1,8	15,6±1,8	15,6±1,8	15,6±1,8
Тип реакции на заражение, балл						
BZR 18 *Bacillus* sp.	3,2±0,4	3,2±0,5	2,8±0,5	4,0±0,4	2,7±0,5	3,2±0,5
Bacillus subtilis:						
BZR 436	4,0±0,5	3,8±0,5	3,5±0,4	3,8±0,6	3,1±0,5	3,8±0,5
BZR 517	3,4±0,6	3,6±0,8	3,6±0,8	4,1±0,6	3,2±0,5	3,6±0,5
BZR 336 s	4,3±0,5	4,5±0,6	3,9±0,5	4,4±0,6	3,8±0,6	4,3±0,7
BZR 336 g	4,1±0,9	4,1±0,5	3,6±0,7	3,9±0,8	4,1±0,8	4,0±0,8
B. licheniformis BZR 59	4,1±1,0	3,6±0,4	3,6±0,5	4,0±0,8	3,4±0,7	3,6±0,6
Ochrobactrum sp. BZR 417	4,1±0,9	4,2±0,7	3,8±0,6	4,3±0,5	3,6±0,6	4,1±0,6
Фитоспорин-М, Ж	3,9±0,5	4,0±0,7	3,6±0,5	3,6±0,6	3,5±0,5	3,6±0,5
Прозаро, КЭ	–	2,4±0,5	–	3,3±0,6	–	2,3±0,5
Контроль (без обработки)	4,6±0,5	4,6±0,5	4,6±0,5	4,6±0,5	4,6±0,5	4,6±0,5
Развитие болезни на одном растении, %						
BZR 18 *Bacillus* sp.	4,4±2,5	8,2±4,5	4,6±3,1	19,3±4,8	4,6±3,5	8,3±4,3
Bacillus subtilis:						
BZR 436	18,9±4,7	11,5±4,5	10,1±4,1	13,3±4,2	7,0±4,0	13,8±4,5
BZR 517	9,5±3,6	9,5±4,0	11,7±3,9	16,9±4,5	9,4±4,8	11,4±4,0
BZR 336 s	14,7±4,1	22,0±6,1	10,5±4,0	22,5±5,2	10,5±4,5	22,5±5,8
BZR 336 g	11,8±3,9	15,6±5,5	12,8±3,5	11,0±4,7	12,0±4,6	12,5±3,8
B. licheniformis BZR 59	11,4±4,0	12,5±5,1	8,9±5,0	8,2±3,8	8,5±4,8	8,5±4,0
Ochrobactrum sp. BZR 417	15,0±4,1	15,5±3,9	14,4±4,5	18,5±4,0	14,8±5,2	15,0±4,6
Фитоспорин-М, Ж	14,0±4,3	15,8±5,0	15,3±5,1	16,2±4,5	14,7±3,5	16,0±4,2
Прозаро, КЭ	–	4,5±2,8	–	7,7±3,0	–	5,1±3,1
Контроль (без обработки)	26,4±5,6	26,4±5,6	26,4±5,6	26,4±5,6	26,4±4,6	26,4±4,6

Примечание. 1 — с дополнительным инкрустированием семян, 2 — без инкрустирования. Прочерки означают, что вариант обработки не применялся. Контроль — без обработки препаратами.

Анализ биологической эффективности бактериальных препаратов

выявил различия, которые зависели от свойств использованного штамма и режимов применения. Наибольшее подавление образования и развития пятен отмечали у *Bacillus* sp. BZR 18 (68,5-83,0 %) и *B. subtilis* BZR 517 (55,6-64,0 %) во всех вариантах, кроме обработки по первым признакам без предварительного инкрустирования зерна (в этом случае показатель составил соответственно 26,8 и 35,9 %), а также у *B. licheniformis* BZR 59 (52,6-68,9 %) во всех вариантах (табл. 2).

2. Биологическая эффективность (к контролю, %) **у штаммов, проявлявших in vitro антагонизм в отношении *Pyrenophora tritici-repentis*, на растениях пшеницы восприимчивого сорта Батько в фазу всходов в условиях теплицы**

Штамм-антагонист, препарат	Вариант обработки					
	профилактическая		по первым признакам заболевания		профилактическая + по первым признакам заболевания	
	1	2	1	2	1	2
По числу пятен на листьях						
Bacillus sp. BZR 18	60,8	50,0	63,4	19,8	60,2	53,2
Bacillus subtilis:						
BZR 436	36,0	43,6	38,5	41,6	56,4	33,3
BZR 517	71,1	51,9	34,6	20,5	43,5	37,8
BZR 336 s	35,8	30,7	48,7	21,1	45,5	35,8
BZR 336 g	42,3	39,1	53,8	46,1	46,7	43,5
B. licheniformis BZR 59	39,7	33,9	55,1	57,0	47,4	49,3
Ochrobactrum sp. BZR 417	32,7	32,7	23,7	21,1	35,8	33,9
Фитоспорин-М, Ж	50,6	32,7	37,8	46,8	49,3	27,6
Прозаро, КЭ	–	72,4	–	55,7	–	72,4
По типу реакции на заражение						
BZR 18 *Bacillus* sp.	30,4	30,4	39,1	13,0	41,3	30,4
Bacillus subtilis:						
BZR 436	13,0	17,3	23,9	17,3	32,6	17,3
BZR 517	26,0	21,7	21,7	10,8	30,4	21,7
BZR 336 s	6,5	2,1	15,2	4,3	17,3	6,5
BZR 336 g	10,8	10,8	21,7	15,2	10,8	13,0
B. licheniformis BZR 59	10,8	21,7	21,7	13,0	26,0	21,7
Ochrobactrum sp. BZR 417	10,8	8,6	17,3	6,5	21,7	10,8
Фитоспорин-М, Ж	15,2	13,0	21,7	21,7	23,9	21,7
Прозаро, КЭ	–	47,8	–	28,2	–	50,0
По степени развития болезни						
BZR 18 *Bacillus* sp.	83,0	68,9	82,5	26,8	83,0	68,5
Bacillus subtilis:						
BZR 436	28,4	56,4	61,7	49,6	73,4	47,7
BZR 517	64,0	64,0	55,6	35,9	64,3	56,8
BZR 336 s	44,3	16,6	60,3	14,7	60,2	14,7
BZR 336 g	55,3	40,9	51,5	58,3	54,5	52,6
B. licheniformis BZR 59	56,8	52,6	66,2	68,9	67,8	67,8
Ochrobactrum sp. BZR 417	43,1	41,2	45,4	29,9	43,9	43,1
Фитоспорин-М, Ж	46,9	40,1	42,0	38,6	44,3	39,4
Прозаро, КЭ	–	82,9	–	70,8	–	80,6

Примечание. 1 — с дополнительным инкрустированием семян, 2 — без инкрустирования. Прочерки означают, что вариант обработки не применялся. Контроль — без обработки препаратами.

Обработка ЖК на основе штамма *B. subtilis* BZR 336 g обеспечила эффективность от 51,5 до 58,3 % во всех вариантах, кроме профилактической обработки без предварительной обработки зерна (40,9 %), у *B. subtilis* BZR 336 s этот показатель был практически одинаковым и достаточно высоким — 60,2 и 60,3 % соответственно при обработках по первым признакам с предварительным инкрустированием зерна и при профилактическом применении в сочетании с обработкой по первым признакам и предварительным инкрустированием, тогда как в остальных вариантах он был значительно ниже и сильно варьировал (от 14,7 до 44,3 %). У штамма *B. subtilis* BZR 436 эффективность изменялась от 28,4 % (профилактическая обработка с предварительным инкрустированием зерна) до 73,4 % (профилактическая обработка в сочетании с применением по первым признакам и предварительным инкрустированием). Эффективность штамма *Ochrobac-*

trum sp. BZR 417 во всех вариантах не превышала 45,4 %.

Химический стандарт показал максимальный защитный эффект против возбудителя желтой пятнистости листьев — по числу пятен (55,7-72,4 %), по типу проявления болезни (28,2-50,0 %) и по степени развития болезни (до 78,0-82,9 %). У фитоспорина-М (Ж) биологическая эффективность была ниже в сравнении с химическим стандартом, но соответствовала таковой у других штаммов: по сокращению числа пятен составила от 27,6 до 50,6 %, по типу реакции развития болезни — от 13,0 до 21,7 %, по степени развития болезни — от 38,6 до 46,9 %.

Отмечено, что к основным механизмам биоконтроля фитопатогенов ризобактериями, к которым относятся исследуемые новые агенты, можно отнести конкуренцию за экологические ниши и источники питания, ферментативную активность, приводящую к лизису клеток фитопатогена, продукцию веществ антибиотической природы, индукцию резистентности к фитопатогенам (30, 31).

Полученные ранее данные позволяют предположить, что существенный защитный эффект во всех вариантах обработки растений озимой пшеницы опытными образцами биопрепаратов по первым признакам проявления желтой пятнистости листьев связан с синтезом миколитических ферментов группы хитиназ, липаз и протеаз, а также с продукцией антибиотических веществ (26, 27).

Важно отметить, что высокие показатели защитного действия в вариантах с опытными образцами биопрепаратов при профилактической обработке предположительно могут быть связаны со способностью биологических агентов индуцировать реакции системной устойчивости у растений (induced systematic resistance — ISR) (32).

Таким образом, все исследуемые бактериальные штаммы, кроме *Ochrobactrum* sp. BZR 417, в среднем проявили биологическую эффективность выше 50 % по способности сдерживать развитие желтой пятнистости листьев пшеницы при различных вариантах обработок в фазу всходов. Наиболее результативным было сочетание предварительного инкрустирования семян с последующей профилактической обработкой и применением препарата по первым признакам заболевания (в зависимости от антифунгальной активности бактериального агента).

ЛИТЕРАТУРА

1. Hosford R.M. Tan spot of wheat and related diseases workshop. Fargo, North Dakota State University, 1982.
2. Sykes E.E., Bernier C.C. Qualitative inheritance of tan spot resistance in hexaploid, tetraploid and diploid wheat. Can. J. Plant Pathol., 1991, 64(1): 38-44.
3. Misra A.P., Singh R.A. Pathogenic differences amongst three isolates of *Helminthosporium tritici-repentis* and the performance of wheat against them. Ind. Phytopathol., 1972, 25(3): 350-353.
4. Cook R.J., Yarham D.J. Occurrence of ten spot of wheat caused by *P. tritici-repentis* on wheat in England and Wales in 1987. Plant Pathol., 1989, 38(1): 101-102.
5. Maraite H., Berny J.F., Goffi A. Epidemiology of tan spot in Belgium. Proc. 2nd Int. Tan spot workshop. Fargo, North Dakota State University, 1992: 73-79.
6. Dumitras L., Bontea V. Data noi privinol parasitul foliar al griulu Helminthosporium repentis Diedicke. Studii si Cercetari de Biologie Vegetala, 1981, 33: 169-172.
7. Šarová J., Hanzalová A., Bartoš P. Incidence of wheat leaf spot pathogens in the Czech Republic. Cereal Res. Commun., 2003, 31: 145-151.
8. Хасанов Б.В. Желтая пятнистость листьев злаков, вызываемая *Pyrenophora tritici-repentis.* Микология и фитопатология, 1988, 22(1): 78-84.
9. Гранин Е.Ф., Монастырная Э.И., Краева Г.А., Кочубей К.Ю. Пиренофороз озимой пшеницы на Северном Кавказе. Защита растений, 1989, 12: 21.
10. Андронова А.Е. Пиренофороз озимой пшеницы на юго-западе России. Защита и

карантин растений, 2001, 5: 32.
11. Кремнева О.Ю., Волкова Г.В. Пиренофороз — опасное заболевание пшеницы. Защита и карантин растений, 2007, 6: 45-46.
12. Кремнева О.Ю., Волкова Г.В. Желтая пятнистость листьев пшеницы на Северном Кавказе. Защита и карантин растений, 2011, 10: 37-39.
13. Hirrell M.C., Spadley J.P., Mitchell J.K., Wilson E.W. First report of tan spot caused by *Drechslera tritici-repentis* and rating their reaction. Plant Dis., 1990, 74(3): 252.
14. Hosford R.M., Jordahl J.G., Hammond J.J. Effect of wheat genotype, leaf position, growth stage, fungal isolate, and wet period on tan spot lesions. Plant Dis., 1990, 74: 385-390.
15. Справочник пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации. М., 2012.
16. Taechowisan Th., Chanaphat S., Ruensamran W., Phutdhawong W.S. Antifungal activity of 3-methylcarbazoles from *Streptomyces* sp. LJK109, an endophyte in *Alpinia galangal*. J. Appl. Pharm. Sci., 2012, 02(03): 124-128.
17. Perelly A., Moreno V., Mynaco C., Simyn M.R. Effect of *Trichoderma* spp. isolates for biological control of tan spot of wheat caused by *Pyrenophora tritici-repentis* under field conditions in Argentina. BioControl, 2008, 53: 895-904.
18. Perelly A., Simyn M.R., Sisterna M., Cordo C., Arambarri A. Microflora of wheat (*Triticum aestivum* L.) in Buenos Aires Province (Argentina) and its possible significance in biological control of foliar pathogens. J. Plant Dis. Protect., 2001, 108: 459-471.
19. Khana M.R., Brienb E.O., Carneyc B.F. A fluorescent pseudomonad shows potential for the control of net blotch disease of barley. Biological Control, 2010, 54(1): 41-45.
20. Istifadah N., McGee P. Endophytic *Chaetomium globosum* reduces development of tan spot in wheat caused by *Pyrenophora tritici-repentis*. Austral. Plant Pathol., 2006, 35(4): 411-418.
21. Istifadah N., Saleeba J., McGee P. Isolates of endophytic *Chaetomium* spp. inhibit the fungal pathogen, *Pyrenophora tritici-repentis*, in vitro. Canadian Journal of Botany—Revue Canadienne De Botanique, 2006, 84(7): 1148-1155.
22. Боровая В.П. Биологическая защита озимого ячменя. Защита и карантин растений, 2007, 4: 49.
23. McLoughlin A.J., Quinn P., Betterman A., Brooklan R. *Pseudomonas cepacia* suppression of sunflower wilt fungus and role of antifungal compounds in controlling the disease. Appl. Environ. Microbiol., 1992, 56: 1760-1763.
24. McLoughlin A.J. Plasmid stability and ecological competence in recombinant cultures. Biotechnological Advances, 1994, 12: 279-324.
25. Homma Y. Mechanisms in biological control — focused on the antibiotic pyrrolnitrin. In: Improving plant productivity with rhizobacteria /M.H. Ryder, P.M. Stephens, G.D. Bowen (eds.). Adelaide, Australia, CSIRO Division of Soils, 1994: 100-103.
26. Кремнева О.Ю., Асатурова А.М., Волкова Г.В. Отбор штаммов бактерий, проявляющих антагонизм в отношении возбудителя желтой пятнистости листьев пшеницы. Биотехнология, 2013, 5: 54-59.
27. Асатурова А.М., Дубяга В.М., Томашевич Н.С., Жарникова М.Д. Отбор перспективных агентов биологического контроля для защиты озимой пшеницы от возбудителей фузариоза. Электронный политематический научный журнал КубГАУ, 2012, 75(01) (http://ej.kubagro.ru/2012/01/pdf/37.pdf).
28. Асатурова А.М., Надыкта В.Д., Исмаилов В.Я., Дубяга В.М., Томашевич Н.С., Жарникова М.Д., Жевнова Н.А., Хомяк А.И. Изучение влияния бактеризации семян на рост и развитие растений озимой пшеницы. Электронный политематический научный журнал КубГАУ, 2013, 85(01) (http://ej.kubagro.ru/2013/01/pdf/66.pdf).
29. Методические указания по регистрационным испытаниям фунгицидов в сельском хозяйстве. СПб, 2009.
30. Thomashow L.S., Weller D.M. Current concepts in the use of introduced bacteria for biological disease control: mechanisms and antifungal metabolites. Plant–Microbe Interact., 1996, 1: 187-235.
31. Боронин А.М. Ризосферные бактерии рода *Pseudomonas*, способствующие росту и развитию растений. Соросовский образовательный журнал, 1998, 10: 25-31.
32. Van Loon L.C., Bakker P.A.H.M., Pieterse C.M.J. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. Ann. Rev. Phytopathol., 1998, 36: 453-483.

ГНУ Всероссийский НИИ биологической защиты растений Россельхозакадемии,
350039 Россия, г. Краснодар-39, ВНИИБЗР,
e-mail: kremenoks@mail.ru

Поступила в редакцию
3 декабря 2013 года

in vitro DEMONSTRATE DIFFERENT EFFICACY ON WHEAT SEEDLING IN GREEN HOUSE

O.Yu. Kremneva, A.M. Asaturova, M.D. Zharnikova, G.V. Volkova

All-Russian Research Institute of Biological Plant Protection, Russian Academy of Agricultural Sciences, VNIIBZR, Krasnodar-39, 350039 Russia, e-mail kremenoks@mail.ru

Supported by Grant of the President of the Russian Federation and the EurAsEU International Program «Innovation biotechnologies» of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation

Received December 3, 2013 doi: 10.15389/agrobiology.2015.1.99eng

Abstract

Yellow leaf spot is a wide spread diseases of soft and hard wheat. Numerous publications and the authors' own research show that its epiphytotics occur in different countries (Australia, Canada, USA, India, England, Belgium, Romania, Czech Republic, Kazakhstan) with crop losses reaching 65 %. In Russia the disease is most common in the North Caucasus. Development and application of new high-performance environmentally friendly biological products is regarded as one of the most effective biologized approach to wheat protection against the disease. In searching potential bacterial agents for use as protective means, their in vitro antagonistic activity should be accompanied by the ability to provide effective protection for seeds and seedlings. Herein we studied the repression of yellow spot development during early stages of plant vegetation in a greenhouse as influenced by the bacterial strains which were in vitro antagonistic to *P. tritici-repentis* (Died.) Drechsler. Winter wheat cultivar Bat'ko susceptible to the pathogen was used as test plant. Six isolates of the *Bacillus* family (*Bacillus* sp. BZR 18, *B. subtilis* BZR 336 s, *B. subtilis* BZR 336 g, *B. subtilis* BZR 436, *B. subtilis* BZR 517, B. *licheniformis* BZR 59), as well as *Ochrobactrum* sp. BZR 417 from the collection of All-Russian Research Institute of Biological Plant Protection were used as candidate bio agents. For comparison, liquid Fitosporin-M was used as a biological preparation (LLC Scientific Innovation Enterprise «BashInkom», Russia) and Prozaro emulsion concentrate was used as a chemical fungicide («Bayer CropScience», Germany). Liquid cultures of antagonistic bacterial strains were applied in three modes, namely before inoculation (prophylactic treatment), at early signs of the disease (on the day 3 after inoculation) and by their combination. All treatments were performed with inlaying and without inlaying grain with liquid bacterial culture. All studied bacterial strains except *Ochrobactrum* sp. BZR 417 showed considerable biological efficacy of leaf spot inhibition. The *Bacillus* sp. BZR 18 and *B. subtilis* BZR 517 were the most inhibiting strains which repressed leaf spot development at 68.5 to 83.0 % and 55.6 to 64.0 % rate, respectively, in all variants except treatment at early signs of the infection without inlaying grains when the efficiency was 26.8 and 35.9 %, respectively. *B. licheniformis* BZR 59 provided for 52.6 to 68.9 % leaf spot inhibition. Liquid culture of *B. subtilis* BZR 336 g strain ensured efficiency from 51.5 to 58.3 % in all variants except a preventive treatment without inlaying grain when the efficiency was 40.9 %. *B. subtilis* BZR 336 s, if used at early signs of infection with inlaying grain and in combination of prophylactic treatment with application at early signs of infection and inlaying grain, caused 60.2 and 60.3 % leaf spot repression; in other cases a 14.7 to 44.3 % repression was observed. BZR 436 *B. subtilis* effectiveness was from 28.4 % under preventive treatment with preliminary grain inlaying to 73.4 % under preventive treatment together with application at early signs of infection and inlaying grain. The efficiency of *Ochrobactrum* sp. BZR 417 strain does not exceed 45.4 % in all variants. Depending on antifungal activity of the bacterial agent, a combination of grain pre-treatment, prophylactic treatment and treatment at early signs of infection proved to be the most effective.

Keywords: *Pyrenophora tritici-repentis*, antagonistic bacteria, biological effect, winter wheat, tan spot disease, seedlings.

Научные собрания

МЕЖДУНАРОДНАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ «СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИННОВАЦИОННОГО РАЗВИТИЯ ОВОЩЕВОДСТВА»

(21–24 июля 2015 года, Самохваловичи, Беларусь)

Контакты и информация: belniio@mail.ru

II МЕЖДУНАРОДНАЯ НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ «ГЕНЕТИКА И БИОТЕХНОЛОГИЯ XXI ВЕКА: ПРОБЛЕМЫ, ДОСТИЖЕНИЯ, ПЕРСПЕКТИВЫ» (к 50-летию ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси»)

(13-16 октября 2015 года, г. Минск, Беларусь)

Контакты и информация: E.Sycheva@igc.bas-net.by