

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«КАЗАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Кафедра Общего земледелия, Защиты растений и селекции

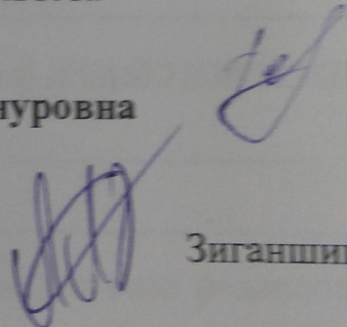
**ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
МАГИСТРА**

**«ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ
ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ В КАЧЕСТВЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ АГЕНТОВ
НА ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЕ»**

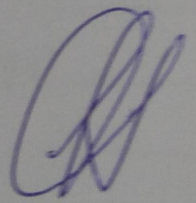
Исполнитель – магистр очного отделения
агрономического факультета

Гараева Альфина Фаннуровна

Руководитель: доцент, к.с.-х.н.

 Зиганшин А.А.

Допущена к защите: зав. кафедрой,
профессор, д.с.-х.н.

 Сафин Р.И.

Обсуждена на заседании кафедры и допущена к защите (протокол №12 от
13.06.2019 г)

Казань – 2019 г

	Стр.
ВВЕДЕНИЕ.....	3
I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	5
II. УСЛОВИЯ И МЕТОДИКА ПРОВЕДЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ.	14
2.1. Объекты и материалы исследований.....	14
2.1. Агрометеорологические условия	15
2.2. Методика исследований	17
III. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	19
3.1. Полевая всхожесть и густота стояния растений.....	19
3.2. Поражение растений болезнями.....	20
3.3. Содержание хлорофилла в листьях.....	22
3.4. Площадь листьев.....	23
3.5. Урожайность и структура урожая.....	24
4. ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ.....	26
ОСНОВНЫЕ ВЫВОДЫ И ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВУ.	27
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	28
ПРИЛОЖЕНИЕ.....	36

Актуальность темы. В условиях глобальных изменений климата и ухудшения фитосанитарного состояния на основных сельскохозяйственных культурах, существенное значение приобретают вопросы разработки новых подходов к защите растений от вредных объектов, в том числе и от фитопатогенов (Дружин, 2010; Левитин, 2015, 2016). Такое внимание к вопросам контроля фитопатогенов обусловлено и тем отрицательным влиянием которые они могут оказывать на качественные характеристики продуктов питания, в том числе и на качество зерна пшеницы с точки зрения накопления токсинов микромицетов микотоксинов (Монастырский, 2006; Гагкаева и др., 2011). Существующие прогнозы говорят о том, что данная отрицательная тенденция только усилится (Левитин, 2012; Дьяков, 2015).

Значительное место в таких адаптивных, интегрированных системах контроля фитосанитарного состояния играет биологический метод (Захаренко, 2015), в основе которого лежит использование различных микроорганизмов – биологических агентов контроля (BCMs), таких как различные антагонистические микромицеты (*Trichoderma* и др.) (Gopalakrishnan et al., 2015) бактерии (*Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Bacillus* *Bradyrhizobium*, *Azotobacter*, *Azospirillum*) (VanOostenetal., 2017). Механизмы подавления биологическими агентами фитопатогенов могут быть различными (Singh et al., 2014), но наиболее часто к ним относят конкуренцию, паразитизм (Bolwerk et al., 2003; Palumbo et al., 2005; Алимова, 2006), антибиотики ((Wiest и et al., 2002; Stinson et al., 2003; Danaei et al., 2014), индуцированный иммунитет (Meziane et al., 2005; Whipps, McQuilken, 2009; Wu et al., 2017), гормональное влияние и т.д. (Szczzech, Shoda, 2004; Бухарин и др., 2007; Whipps, McQuilken, 2009; Xu et al., 2011; Артамонова и др., 2014; Феоктистова и др., 2016). В связи с этим, создание новых биопрепаратов для защиты растений от болезней относится к числу наиболее актуальных направлений в фитопатологии (Акимова и др., 2009; Штерншис, 2012; Gopalakrishnan et al., 2014; Марченко, 2017).

К числу наиболее перспективных групп биологических агентов контроля фитопатогенов особое место занимают эндофитные микроорганизмы, тесно связанные с тканями растений, в том числе и семенами (Diekmann, 1996; Hardoim et al., 2015; Links et al., 2014). Изучение активности таких эндофитов и разработка биопрепаратов на их основе является одним из наиболее актуальных направлений в биологической защите растений (Hallmann et al., 1997; Naggag, 2010).

В связи с этим, оценка эффективности эндофитных микроорганизмов имеет большую теоретическую и прикладную значимость.

Цель исследований – изучение эффективности применения эндофитных бактерий при обработке семян яровой пшеницы.

Задачи исследований:

- изучить влияние обработки семян эндофитными бактериями на густоту стояния растений;
- дать оценку применения данных микроорганизмов для контроля корневых гнилей яровой пшеницы;
- оценить влияние применения биоагента на урожайность и структуру урожая яровой пшеницы в зависимости от нормы расхода препарата;
- определить экономическую эффективность применения эндофитных бактерий с разными нормами применения для обработки семян.

Научная новизна. Впервые в зоне проведения исследований изучена эффективность эндофитных бактерий для обработки семян яровой пшеницы.

Положения, выносимые на защиту:

1. результаты оценки влияния обработки семян эндофитной бактерии на рост и развитие растений пшеницы;
2. оценка эффективности применения биоагентов в сравнении с химическим протравителем семян.

Практическая значимость. Разработанные приемы позволяют праз-

работать новые биопрепараты для обработки семян яровой пшеницы.

Объем работы. ВКР изложена на 36 страницах компьютерного текста, состоит из введения, 4 глав, выводов и предложений производству, включает 9 таблиц, 2 рисунка, 1 приложение. Список литературы состоит из 65 наименований, в том числе 40 иностранных авторов.

Эндофитные микроорганизмы или эндофиты – бактерии или грибы, колонизирующие внутреннюю часть растений, при этом не вызывая развития инфекционного заболевания и не оказывая значительного влияния на рост и развития растения-хозяина (Schulz, Boyle, 2006; Chebotar et al., 2016).

Эндофиты могут развиваться в межклеточном пространстве, а также в клетках корней растений, в их сосудистой системе, при этом находится в мутуалистических взаимоотношения с растением хозяином (Широких, 2008).

Бактериальные эндофиты, то есть бактерии которые присутствуют в растениях, известны примерно 120 лет. В 1926 году эндофитный рост был признан в качестве особого этапа в жизни бактерий, описанный как продвинутая стадия совместного существования и как имеющие близкие отношения с мутуалистическим симбиозом [6]. С тех пор эндофиты были определены как микроорганизмы, которые могут быть изолированным от поверхностно-стерилизованных органов растений [7]. В защите растений, эта концепция была расширена до понятия о том, что «... что эндофиты охватывают все бактерии, которые могут быть выделены из поверхностных стерилизованных растительные ткани и не наносят видимого вреда растениям-хозяевам» [8]. В соответствии со своими жизненными стратегиями, бактериальные эндофиты могут быть классифицированы как «обязательные» или «факультативные». Первые, сильно зависят от растения-хозяина для их роста и выживания, а передача их другим растениям происходит вертикально или через векторы. У факультативных эндофитов есть этап в их жизненном цикле, в котором они существуют вне растений-хозяев. В некоторых случаях, бактериальные фитопатогены также можно рассматривать как (факультативные или обязательные) эндофиты, т.к. они часто находятся в растениях в авирулентной форме.

Облигатный эндофитный образ жизни бактерий имеет ограниченное распространение, поэтому при разработке биологических методов защиты с

помощью эндофитных бактерий основное внимание уделяется факультативным эндофитам.

Жизненный цикл факультативных эндофитов можно охарактеризовать как состоящим из двух стадий, чередующихся между растениями и окружающей средой (в основном почвой). Подавляющее большинство микроорганизмов, которые могут развиваться внутри растений, вероятно, имеют склонность к этому двухэтапному образу жизни. При этом существенное значение имеет способность разнообразных эндофитов проникать и сохраняться в растениях (Rosenblueth and Martinez-Romero, 2006). Очень часто эндофиты проникают из почвы, первоначально заражая растение-хозяина путем колонизации, например, через трещины, образовавшиеся в боковых корневых волосках, а затем быстро распространяясь в межклеточном пространстве в корне (Chi, F. et al., 2005). Хотя существуют другие способы проникновения в растения (например, через раны, вызванные фитопатогенами, или устьица в ткани листа (McCully, 2001, но трещины корня признаны основными «горячими точками» бактериальной колонизации (Sørensen and Sessitsch, 2006) (рис. 1).

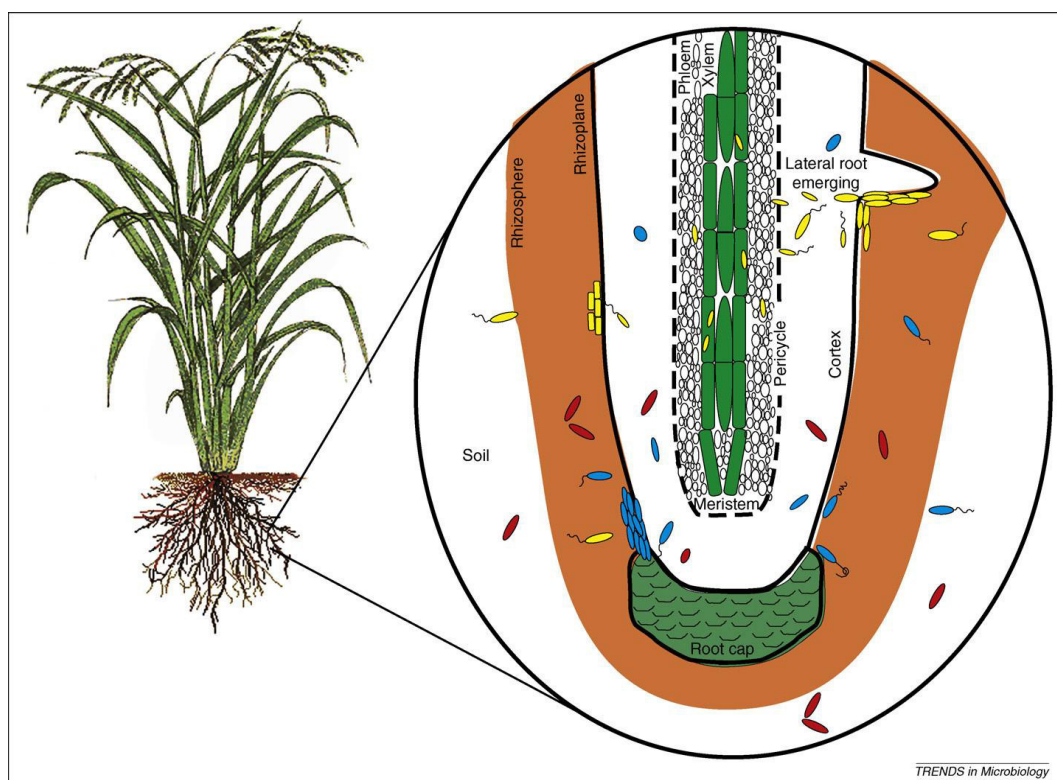


Рис.1 – Типы эндофитов и процесс колонизации ими растений

Стохастические события и детерминированные бактериальные факторы ведут к колонизации эндосферы, в которой как считается, происходит ряд событий, в том числе образование микроколоний на поверхности корня. Населяющие почву бактерии могут стать эндофитными случайно (например, через колонизация естественных ран или последующая инвазия корней нематодами). Такие бактерии считаются «пассажирскими эндофитами» и они часто ограничены тканью коры корня. Оппортунистические эндофиты демонстрируют особые характеристики колонизации корней (например, хемотаксический ответ, который позволяет им колонизировать ризоплан, а затем проникать во внутренние ткани растения через трещины, образовавшиеся в местах появления боковых корней и корневого чехлика). Однако, как это происходит с «пассажирскими эндофитами», оппортунистические эндофиты ограничены конкретными тканями растений (например, коры корней). Предполагается, что «компетентные эндофиты» (желтые клетки на рис. 1) имеют все свойства оппортунистических эндофитов и, кроме того, хорошо адаптируются к растительной среде. Они способны проникать в определенные растительные ткани, такие как сосуды, распространяясь по всему растению и, управляя метаболизмом растения, поддерживая гармоничный баланс с хозяином растения.

Хотя наличие бактериальных эндофитов в растениях является не постоянной величиной и, иногда, сильно изменяющимся параметром (Van Overbeek, Elsas, 2008) они часто способны вызывать резкие физиологические изменения, которые могут стимулировать рост и развитие растения (Conrath, et al., 2006). Часто проявление данных полезных эффектов у эндофитов больше чем у многих ризосферно-колонирующих бактерий (Pillay and Nowak, 1997), и они могут усугубляться, когда растение растет в стрессовых условиях (Barka et al., 2006). Последовательность событий в эндофитная колонизация внутренних частей растения, по-видимому, похоже, по крайней мере на начальных этапах, на колонизацию корня растений ризобактериями (Hallmann et al., 1997). Действительно, бактерии, принадлежащие к так называемой корне-колонирующей ризосфере - например, бактерии представители

рода *Pseudomonas* (например, *P. fluorescens*), *Azospirillum* (например, *A. brasilense*) и *Bacillus* - часто также встречаются как колонизаторы внутренняя ткань растений (Hallmann and Berg, 2006). Тем не менее, предполагается что эндوفиты представляют собой специализированных членов этих групп, что указывает на то, что эндوفитная стадия представляет собой развитый бактериальный способ существования и стадию онтогенеза. Набор экологических и генетических факторов, как предполагается, играют определенную роль в том как специфическая бактерия становится эндوفитной (Reinhold-Hurek and Hurek, 1996). Таким образом эндوفитное существование определенных бактерий является результатом случайных факторов, определяемым шансами развития при котором корни вступают в контакт с эффективными уровнями консурциумов бактерии. При этом причины эндوفитного характера существования определяется наличием выделенных генетических систем которые обеспечивают бактериальные подавление систем распознавания и активный процесс колонизации. Множество почвенных и водных бактерий могут превратиться в успешных эндосферных колонизаторов, если они обладают способностью бороться с колебаниями факторов в их окружении, перемещаясь из экзосфера в эндосферу, в которой разные ткани растений требуют разные бактериальные реакции. В эндосфере модуляция изменения в физиологии растений путем воздействия на уровень этилена стала основной стратегией, потому что любое воздействие на этот мессенджер стресса растений оказывает значительное влияние на бактериальную нишу (Iniguez et al., 2005). Таким образом, как бактерии влияют на концентрацию этилена является ключом к их экологическому успеху или компетентность как эндوفита. Концепция «компетентный эндوفит» предлагается как способ охарактеризовать эти бактерии, обладающие ключевым генетическим механизмом, необходимым для колонизация эндосферы и сохранение в ней. Это в, в отличие от оппортунистических эндوفитов, которые компетентны как ризосферные колонизаторы, но не могут стать эндوفитными, т.к. у них не хватает генов, для коолонизации тканей растений. Более того, можно выделить пассажирские

эндофиты, которые в отсутствие какого-либо механизма для эффективной колонизации, могут попасть в растения исключительно в результате случайности. Для компетентных эндофитов, оба партнера во вновь возникшей бактериально-растительной ассоциации, получают положительный эффект от совместного существования.

Разнообразие и состав сообщества бактерий в эндосфере, вероятно, управляется случайными событиями, которые, в свою очередь, находятся под влиянием детерминированных процессов колонизации (Battin et al., 2007). Исходя из предпосылки, что эндофиты обычно происходят из почвы, в которой хозяин растет, именно почвенные факторы определяют колонизацию растения различными бактериями и, таким образом, определяют и состав сообщества бактериальных эндофитов. Принимая во внимание неоднородность почвы на уровне микробиоты и гетерогенное распределение корней растений в почве, первые шаги в колонизации корней растений почвенными бактериями вероятно, действительно могут быть охарактеризованы как стохастические события, которые зависят от вероятности, с которой происходит эффективное взаимодействие в корень растения – бактерия. Было постулировано, что эта вероятность зависит от исходного обилия, разнообразия, физиологического статуса и распределение предполагаемых эндофитов в почве. Такие факторы, как генотип растения, стадия роста и физиологический статус, тип растительной ткани, экологическая (почвенные) условия и методы ведения сельского хозяйства также определяют эндофитную колонизацию и структуры эндосферных сообществ (Hallmann and Berg, 2006). Кроме того, внутренние свойства бактерии для колонизации тканей растений играют важную роль в качестве детерминанта разнообразия эндофитов. Например, доля изолированных бактерий, показывающих подвижность (имеющие жгутики), извлеченная изнутри корней пшеницы, была более в пять раз больше, чем доля, восстановленная из соответствующая ризосфера (Czaban, 2007). Способность почвенных бактерий приблизиться к корням растений через подвижность, вызванную хемотаксисом и эффективно колонизировать их с помощью привязанности и

микроколонизации, вероятно, являются одними из самых сильных детерминированных факторы, которые определяют успех бактерий в качестве эндофита (Basilio-Jimenez et al., 2003).

Бактериальная колонизация корней часто начинается с распознаванием специфических соединений корневых экссудатов бактериями (De Weert et al., 2002). Эти соединения, вероятно, также играют важную роль во взаимодействиях подземных сообществ. Теоретически, растения одновременно общаются с комменсалистским, мутуалистическим, симбиотическим и патогенные микроорганизмы через соединения, выделяемые их корни (Bais et al., 2004). Тем не менее, было высказано предположение, что растение может общаться, чтобы специально привлечь микроорганизмы для их собственной экологической и эволюционной выгоды. Из-за сложности взаимодействия растений и микробов в почве очень трудно понять подробные механизмы, вовлеченные в эти процессы предполагаемого отбора.

Одним из факторов, который сильно способствует конкурентоспособности в колонизация корня является двигательной направленностью от хемотаксического ответа на корневые экссудаты. Этот ответ варьируется среди эндофитных видов, и вполне вероятно, что несколько параллельных путей развивались в течение разных растительно-микробные взаимодействия. Корнево-эмиссионные органические кислоты являются основными химическими аттрактантами во взаимодействии *P. fluorescens – томата* (De Weert et al., 2002), тогда как углеводы и аминокислоты привлекают *Corynebacterium flavescens* и *Bacillus pumilus* к рису (Bais et al., 2004). Очевидная специфика в этих взаимодействиях вероятно, связано с бактериальными потребностями в питании и, в каждом из этих случаев хемотаксис в сторону специфического ресурса, вероятно, определяют такую специфику взаимодействия. Как только их клетки находятся внутри растения, «компетентные эндофиты» реагируют на сигналы растений для обеспечения дальнейшей индукции клеточных процессов, необходимых для вступления в эндофитную стадию жизни и распространения на другие (межклеточные) ткани растения. Производство фермен-

тов, такие как эндоглюканазы и эндополигалактуронидазы, возможно незаменимо в этом процессе. На этом этапе компетентные эндофиты могут быстро размножаться внутри растения, часто достигая большого числа клеток (например, 108 клеток на 1 сухую массу ткани корня) (Barraquio et al., 1997). Численность эндофитного биома зависит и положительно коррелирует со стадией развития растений, постепенно начиная увеличиваться со стадии всходов и далее максимум при старении растений.

Часто состав эндофитных бактериальных сообществ довольно непредсказуемым, потому что значительное изменение может наблюдаться даже у одних и тех же видов растений. Следовательно, факторы, которые управляют эндофитным бактериальным сообществом с точки зрения богатства и равномерности разных типов, а также с точки зрения их природы, с ранних стадий колонизации корней молодых растений до зрелых растений, плохо изучены. Однако есть указания на то, что у растений существуют механизмы отбора в фитосфере, в результате чего получается экологически приемлемая ассоциация растение-бактерия. Усиление бактериальной колонизации под влиянием определенных углеродистых выделений корней растением и способность определенных бактерий менять метаболизм растений являются ключевыми вопросами о возможном мутуалистическом отношении в системе растение-эндофит. Конкретные эндофиты часто могут иметь важную, если даже не существенную, роль для роста и развития растений. Если такие эндофиты не передаются вертикально (например, через семя), затем появление эффективной физиологической системы хозяина, обеспечивающей их отбор из почвы, что могло иметь ключевое значение для эволюции видов растений.

Практический интерес к эндофитным бактериям связан, с возможностью их использования в получении новых биологических препаратов, предназначенных для защиты растений и повышения урожайности сельскохозяйственных культур. Однако набор современных препаратов на основе эндофитных бактерий небольшой. Наиболее часто в качестве биологического агента положены различные штаммы широко распространённых в почвах эн-

дофитных бактерий *Bacillus subtilis*. К таким препаратам относятся биофунгициды Фитоспорин М и Интеграл, которые показали высокую эффективность в защите растений пшеницы от стрессов (Хайруллин и др., 2007; Мубинов, 2007).

Положительное влияние биопрепаратов на основе эндофитных бактерий показано во многих исследованиях. Например на яровой пшенице обработка Фитоспорином–М (Немченко, Цыпышева, 2014) увеличило урожайность на 3,1 ц/га. Препарат Экстрасол увеличил урожайность яровой пшеницы на 3,8 ц/га (Привезенцев, Тарасов, 2016). Аналогичные результаты получены и в Казахстане (Амангельды и др., 2017), в Башкортостане (Цыпышева, 2014), в Ульяновской области (Никитин, Захаров, 2016).

В связи с этим, создание новых биопрепаратов на основе эндофитных бактерий имеет несомненную актуальность.

II. УСЛОВИЯ И МЕТОДИКА ПРОВЕДЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1. Объекты и материалы исследований

Объект исследований – яровая пшеница сорта Йолдыз.

В качестве эндофитной бактерии использовалась *Bacillus subtilis* штамм RECB – 95 В, полученный в Казанском ГАУ при реализации ФЦП «Разработка современных биологических систем защиты растений от биотических, абиотических и антропогенных стрессов, а также технологий их применения в адаптивном земледелии» по ПНИ № 14.610.21.0017.

Характеристика бактерии:

1. Родовое, видовое название, номер: *Bacillus subtilis* RECB-95В.
2. Источник выделения: Штамм выделен из стеблей растений томата, т.е. является эндофитом.
3. Культурально-морфологические, физиолого-биохимические особенности культуры: грамположительные аэробные спорообразующие палочки. На МПА образует матовые, плоские, сухие, со складчато-морщинистой поверхностью молочно-кремовые колонии, слегка волнистыми краями. На КГА – колонии с фестончатыми краями, кремового цвета, плоские, матовые, сухой консистенции. В мазках 24-часовой культуры обнаруживаются прямые палочковидные клетки, размером $2,8 \div 2,9 \times 0,6$ мкм, одиночные, или расположенные попарно, реже в цепочки. Клетки подвижные. При спорообразовании клетки не раздуваются. Споры эллипсоидные, $0,8 \times 0,6$ мкм, в клетке расположены ближе к центру.
4. Культура утилизирует глюкозу, арабинозу, ксилозу, мальтозу, галактозу, лактозу, маннит, сахарозу, с образованием кислоты; не разлагает дульцит, рамнозу; дает положительную реакцию Фогес-Проскауэра, гидролизует крахмал, желатину, не гидролизует мочевины, утилизирует цитрат, пропионат не использует. Культура каталазоположительная, не растет в анаэробных условиях, не проявляет лецитиназную активность, не образует индол и сероводород.

2.2. Агрометеорологические условия

Агроклиматические условия вегетационного периода 2018 г складывались следующим образом (рис. 2). В мае погода была устойчиво теплой. Среднесуточная температура воздуха за месяц составила 14,4°C или на 9,9 % выше среднемноголетней. Сумма осадков за месяц составила 23 мм или всего 62,1 % от нормы. Сравнительно большее количество осадков выпало во 2-й декаде мая. В июне среднесуточная температура воздуха была 16,9°C, что примерно на уровне среднемноголетних показателей. За месяц выпало 36,0 мм осадков или 49,3 % от нормы, что отразилось на росте и развитии растений. Температура воздуха в июле была немного выше среднемноголетней температуре и составила в среднем 22,3°C, но осадков в течение месяца выпадало на 33 % больше среднемноголетних значений. В августе среднесуточная температура воздуха была выше среднемноголетней и составила в среднем 19,8°C, а сумма осадков за месяц составила лишь 26 мм, что на 33,7% меньше многолетних значений. Сентябрь был теплым и сухим.

Таким образом погодные условия вегетации 2018 года отличались засушливыми условиями, что отразилось на росте и развитии растений пшеницы.

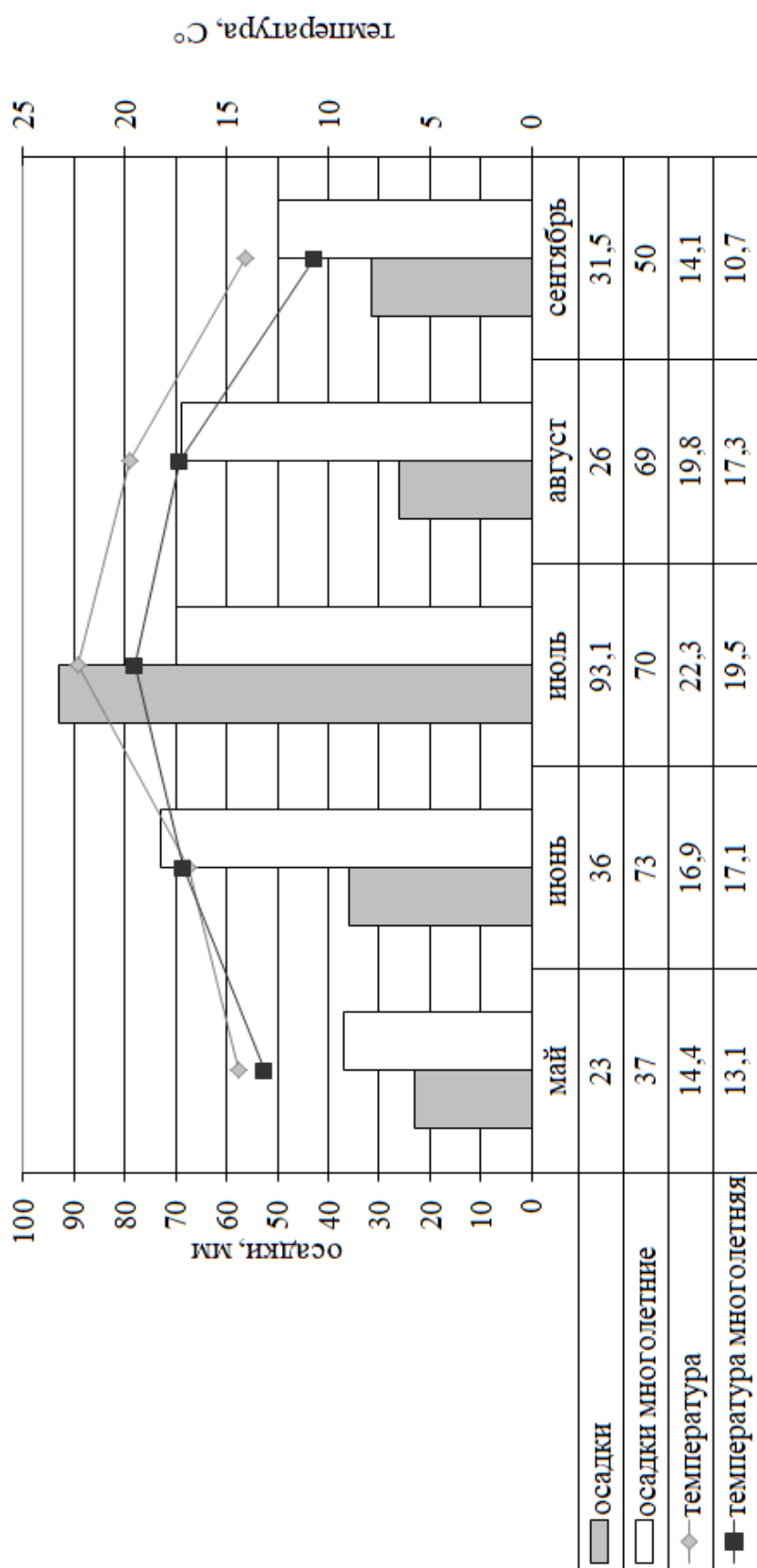


Рис. 1 – Агроклиматические условия вегетационного периода 2018 год
а (станция Казань)

2.3. Методика исследований

Исследования проводились на опытных полях ФГБОУ ВО «Казанский ГАУ» в 2018 году близ населенного пункта село Большие Кабаны.

Схема опыта:

1. Контроль – без обработки семян.
2. Скарлет (100 г/л имазалила + 60 г/л тебуконазола), 0,4 л/т.
3. *Bacillus subtilis* RECB-95B, 0,5 л/т
4. *Bacillus subtilis* RECB-95B, 1,0 л/т.
5. *Bacillus subtilis* RECB-95B, 1,5 л/т.
6. *Bacillus subtilis* RECB-95B, 2,0 л/т.

Общая площадь делянки – 2,1 м², учетная – 1,5 м². Повторность в опыте – четырехкратная. Под культивацию вносились 2 ц/га азофоски и 1 ц /га аммиачной селитры. Посев яровой пшеницы сорта Йолдыз провели 9 мая, с нормой высева 5,5 млн. всхожих семян. Агротехнология возделывания яровой пшениц – общепринятая для зоны Предкамья Республики Татарстан. Расход рабочей жидкости при протравливании – 10 л/т.

Почва опытного участка – серая лесная среднесуглинистая. Агрохимические показатели представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Агрохимические показатели почвы опытного участка в 2018 году (опытное поле Казанского ГАУ)

Показатель	Значения	Группа
Содержание гумуса, %	3,0-3,9	Низкая
рН сол.	5,2-5,4	Слабокислая
Массовая доля фосфора, мг/кг почвы	143-147	Повышенная*
Массовая доля калия, мг/кг почвы	107-110	Средняя*

Общие методические основы проведения исследований

1. Фенологические наблюдения, учет густоты стояния растений, определение элементов структур урожая и урожайности согласно Методикам го-

сударственного сортоиспытания (Методика государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур...1989).

2. Учет болезней растений проводился по общепринятым методикам для зерновых культур.

3. Определение содержания хлорофилла. Экстракцию пигментов из растительного материала проводят 96% этиловым спиртом. Навеску листьев помещали в пробирку объёмом 20 мл и добавляли этиловый спирт в соотношении 1:10. Пробирку нагревали на водяной бане до 65-70°C и выдерживали при этой температуре в течение 40-60 минут. Во время нагрева для предотвращения испарения пробирку неплотно закрывали фольгой. Фотометрический анализ проводили с помощью ИФА/спектрофотометра на планшетах. Оптическую плотность экстракта для определения суммарного хлорофилла проводили при длине волны 630 нм, хлорофилла а и б – 649,665 и 750 нм. Оптическая плотность D750 нм служит поправкой. Концентрации хлорофилла а и б рассчитывали по формулам:

$$C_{\text{хл а}} = 13,7 \cdot (D_{665} - D_{750}) - 5,76 \cdot (D_{649} - D_{750}) \text{ мкг/мл, } (1)$$

$$C_{\text{хл б}} = 25,8 \cdot (D_{649} - D_{750}) - 7,6 \cdot (D_{665} - D_{750}) \text{ мкг/мл, } (2)$$

Для определения концентрации хлорофилла а и б, полученные значения концентрации пигмента в экстракте умножали на объем экстракта в мл и делили на навеску.

4. Уборку и сноповый анализ проводили вручную.

III. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Полевая всхожесть и густота стояния растений

Для оценки влияния предпосевной обработки изучаемыми составами на полевую всхожесть проводили соответствующие учеты (табл. 2).

Таблица 2 – Полевая всхожесть в зависимости от предпосевной обработки семян, %, 2018 г

Вариант	Число всходов, шт./м ²	Полевая всхожесть, %
Контроль	405	73,6
Скарлет	394*	71,6
<i>B. subtilis</i> (0,5 л/т)	442	80,4
<i>B. subtilis</i> (1,0 л/т)	439	79,8
<i>B. subtilis</i> (1,5 л/т)	505	91,8
<i>B. subtilis</i> (2,0 л/т)	507	92,2

Примечание: * – разница значения не достоверна к контролю при стандартной ошибке $P=0,05$.

Результаты оценки показали, что применение химического препарата Скарлет, особенно в условиях майской засухи 2018 года, не оказало положительного влияния на количество всходов и полевую всхожесть яровой пшеницы. Использование биопрепарата на основе эндофитной бактерии, напротив, значительно повысило как количество всходов, так и полевую всхожесть. Наибольшее положительное влияние на данный показатели оказало применение биопрепарата с нормой 1,5 и 2,0 л/т.

Таким образом, в условиях засухи на начальном этапе развития растений пшеницы, применение обработки семян эндофитными бактериями оказывает положительное влияние на рост и развития культуры.

3.2. Поражение растений болезнями

Результаты определения развития корневых гнилей в период всходов яровой пшеницы приведены в таблице 3

Таблица 3 – Оценка развития корневых гнилей растений яровой пшеницы в фазу полных всходов, 2018 г

Вариант	Средний балл поражения	Развитие болезни, %	Биологическая эффективность, %
Контроль	2,6	12,4	
Скарлет	0,1	0,3	97,6
<i>B. subtilis</i> (0,5 л/т)	0,2	0,6	95,2
<i>B. subtilis</i> (1,0 л/т)	0,2	0,6	95,2
<i>B. subtilis</i> (1,5 л/т)	0,2	0,7	94,4
<i>B. subtilis</i> (2,0 л/т)	1,2	3,9	68,5

Как видно из данных таблицы, минимальное поражение растений яровой пшеницы корневыми гнилями отмечался при применении для протравливания семян химического препарата Скарлет, но и в вариантах с обработкой семян эндофитной бактерий происходило снижение поражения растений заболеванием.

Среди вариантов с биопрепаратом на основе эндофитных бактерий, преимуществом обладали обработки с нормой расхода 0,5 и 1,0 л/т.

Результаты оценки развития листовых болезней яровой пшеницы приведены в таблице 4.

В засушливых условиях 2018 года развития болезней листьев шло на низком уровне.

Таблица 4 – Развитие листовых болезней (в фазу колошения) и величина биологической эффективности их контроля при применении обработки семян яровой пшеницы, %, 2018 г

Вариант	Развитие болезни, %		Биологическая эффективность, %	
	септориоз листьев	настоящая мучнистая роса	септориоз листьев	настоящая мучнистая роса
Контроль	15,9	12,5		
Скарлет	4,0	3,3	74,8	73,6
<i>B. subtilis</i> (0,5 л/т)	38,7	11,4	0	8,8
<i>B. subtilis</i> (1,0 л/т)	1,5	4,3	90,6	65,6
<i>B. subtilis</i> (1,5 л/т)	1,1	3,1	93,1	75,2
<i>B. subtilis</i> (2,0 л/т)	2,8	14,5	82,4	0

Минимальное поражение растений пшеницы в фазу колошения септориозом были при применении обработки семян биопрепаратом с нормой расхода 1,5 и 1,0 л/т. Развитие болезни в данных вариантах было значительно ниже, чем при применении химического препарата.

В отношении настоящей мучнистой росы листьев, выделились варианты с нормой расхода 1,5 л/т и химических препарат Скарлет. При применении высокой нормы расхода биопрепарата (2 л/т) развитие болезни несколько усилилось.

Таким образом, было установлено, что обработка семян биопрепаратами с эндофитными микроорганизмами приводит к значительному снижению поражения растений как корневыми гнилями, так и листовыми болезнями.

3.3. Содержание хлорофилла в листьях

Накопление хлорофилла в листьях является одним из индикаторов фотосинтетической деятельности растений (табл. 5).

Таблица 5– Содержание суммарного хлорофилла в листьях яровой пшеницы, мг/г сырого веса, 2018 г

Вариант	Куще- ние	Выход в трубку	Ко- лоше- ние	Цвете- ние	Средняя за вегетацию
Контроль	0,653	1,257	2,126	2,299	1,584
Скарлет	1,773	2,146	2,996	2,387	2,326
<i>B. subtilis</i> (0,5 л/т)	1,363	2,327	2,251	1,874	1,954
<i>B. subtilis</i> (1,0 л/т)	1,250	1,034	2,732	2,425	1,860
<i>B. subtilis</i> (1,5 л/т)	1,332	0,838	1,599	2,340	1,527
<i>B. subtilis</i> (2,0 л/т)	1,416	2,222	2,095	1,806	1,885

В фазу всходов пшеницы во всех вариантах с обработкой семян отмечалось повышение содержания хлорофилла в листьях, но наибольшее его количество было при применении протравливания семян химическим препаратом Скарлет.

В фазу выхода в трубку наибольшие значения накопления пигмента были при обработке семян биопрепаратом с нормой 0,5 и 2,0 л/т.

В период колошения выделялись варианты со Скарлет и с биопрепаратом с нормой 1,0 л/т.

В период цветения максимальные показатели были также при обработке семян биопрепаратом с нормой 1,0 л/т.

Таким образом, в среднем за вегетацию по показателю накопления хлорофилла выделялся химический препарат, а среди вариантов с эндофитными бактериями преимущество имел варианты с нормой 2,0 и 0,5 л/т.

3.4. Площадь листьев

Эффективность фотосинтеза, во многом определяется площадью листовой (ассимилирующей) поверхности.

Таблица 6– Площадь листьев яровой пшеницы (листовой индекс),
м²/м², 2018 г

Вариант	Всходы	Кущение	Выход в трубку	Колошение	Средняя за вегетацию
Контроль	0,097	0,341	0,676	1,150	0,566
Скарлет	0,102	0,305	0,910	1,935	0,813
<i>B. subtilis</i> (0,5 л/т)	0,093	0,703	0,707	1,989	0,873
<i>B. subtilis</i> (1,0 л/т)	0,072	0,555	2,305	1,405	1,084
<i>B. subtilis</i> (1,5 л/т)	0,084	0,586	0,954	3,343	1,242
<i>B. subtilis</i> (2,0 л/т)	0,151	1,095	1,938	1,866	1,263

В фазу всходов и в период кущения яровой пшеницы, максимальная площадь листьев в опыте была при применении биопрепарата с эндофитными бактериями с нормой 2,0 л/т.

В период выхода в трубку преимуществом обладала норма расхода 1,0 л/т семян (2,305 м²/м² против 0,676 м²/м² в контроле).

В фазу колошения наибольшие значения листового индекса были при применении биопрепарата с нормой 1,5 л/т.

В среднем за вегетацию, применение всех вариантов с биопрепаратами привело к более значительному росту площади листьев, чем использование химического протравителя. Среди вариантов, за вегетацию лучшие значения были при применении норм 1,5 и 2,0 л/т.

Таким образом, обработка семян биопрепаратом на основе эндофитных бактерий привело к значительному стимулированию площади листовой поверхности.

3.5. Урожайность и структура урожая

Данные по урожайности яровой пшеницы приведены в таблице 7.

Таблица 7 – Урожайность яровой пшеницы сорта Йолдыз при применении обработки семян, т/га, 2018 г

Вариант	Урожайность, т/га	Прибавка к контролю, т/га	Прибавка к стандартному химическому препарату т/га
Контроль	2,36		
Скарлет	3,04	0,68	
<i>B. subtilis</i> (0,5 л/т)	2,78	0,42	
<i>B. subtilis</i> (1,0 л/т)	3,08	0,72	0,04*
<i>B. subtilis</i> (1,5 л/т)	3,16	0,80	0,12
<i>B. subtilis</i> (2,0 л/т)	3,25	0,89	0,21
НСР ₀₅	0,11		

Примечание: * – разница недостоверна по показателю НСР₀₅.

Применение для обработки семян как химического, так и биологического препарата привело к существенному росту урожайности в сравнении с контролем

Урожайность в вариантах с биопрепаратом с нормой 0,5 и 1,0 л/т достоверно не отличалась от показателей с использованием химического препарата Скарлет.

Обработка семян биопрепаратом в норме 1,5 и 2,0 л/т семян привело к более существенному росту урожайности в сравнении с использованием химического препарата. При этом достоверной разницы по урожайности между значениями норм расхода 1,5 и 2,0 л/т не отмечалось.

Таким образом, применение биопрепарата на основе эндофитной бактерии привело к росту урожайности на уровне и выше, чем использование химического протравителя семян Скарлет.

Результаты структурного анализа представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Структура урожайности яровой пшеницы сорта Йолдыз при применении обработки семян, т/га, 2018 г

Вариант	Число продуктивных стеблей к уборке, шт./м ²	Число колосков в колосе, шт.	Число зерен в колосе, шт.	Масса зерна с 1 колоса, г	Масса 1000 зерен, г
Контроль	429	13	16	0,58	36,3
Скарлет	455	14	18	0,69	38,9
<i>B. subtilis</i> (0,5 л/т)	414	13	18	0,70	39,1
<i>B. subtilis</i> (1,0 л/т)	478	14	19	0,68	36,5
<i>B. subtilis</i> (1,5 л/т)	494	13	17	0,66	39,4
<i>B. subtilis</i> (2,0 л/т)	473	13	19	0,72	37,5

По густоте стояния растений к уборке, максимальное количество было при применении обработки семян биопрепаратом с нормой 1,5 л/т.

Предпосевная обработка семян практически не повлияла на число колосков в колосе.

Во всех вариантах с обработкой семян происходило повышение количества зерен в колосе, но наиболее значительным он бы при применении биопрепарата с нормой 2,0 и 0,5 л/т. В этих вариантах была максимальной и масса зерна с 1 колоса.

По величине массы 1000 зерен преимущество имели варианты с нормой расхода 0,5 и 1,5 л/т.

Таким образом, положительное влияние экспериментального биопрепарата на основе эндофитных бактерий было связано с густоты стояния растений, увеличением числа зерен и их массы.

IV. ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Данные по оценке экономической эффективности приведены по прямым затратам и рассчитаны исходя из прибавки урожая (табл. 9).

Таблица 9 – Показатели экономической эффективности возделывания яровой пшеницы сорта Йолдыз при применении обработки семян, 2018 г

Вариант	Урожайность, т/га	СВП, тыс. руб/га	ПЗ, тыс. руб/га	В т.ч. на препараты, тыс.руб/га	Себестоимость, тыс. руб/т	ЧД, тыс. руб/га	УР, %
Контроль	2,36	21,24	17,81		7,55	3,43	19
Скарлет	3,04	27,36	18,92	0,433	6,22	8,44	45
<i>B. subtilis</i> (0,5 л/т)	2,78	25,02	18,33	0,030	6,59	6,69	36
<i>B. subtilis</i> (1,0 л/т)	3,08	27,72	18,57	0,060	6,03	9,15	49
<i>B. subtilis</i> (1,5 л/т)	3,16	28,44	18,66	0,090	5,91	9,78	52
<i>B. subtilis</i> (2,0 л/т)	3,25	29,25	18,75	0,120	5,77	10,50	56

Примечания: 1. СВП – стоимость валовой продукции; ПЗ – производственные затраты; ЧД – чистый доход; УР – уровень рентабельности. Цена реализации пшеницы (на конец 2018 года) – 9,0 тыс. руб/т. Цена 1 л препарата Скарлет -1510 руб, биопрепарата – 240 руб.

Затраты на биологический препарат были меньше, чем при применении химического препарата Скарлет, что отразилось на величине производственных затрат.

С точки зрения величины чистого дохода и уровня рентабельности, варианты обработки с биопрепаратом на основе эндофитных бактерий с нормами 1,5 и 2,0 л/т значительно превосходи показателя для химического протравителя семян Скарлет.

Таким образом, применение для обработки семян биопрепарата на основе эндофитных бактерий с нормами 1,5-2,0 л/т по своей экономической эффективности значительно превосходят данные для химического протравителя семян.

ОСНОВНЫЕ ВЫВОДЫ И ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВУ

На основании проведенных исследований можно сделать следующие предварительные выводы:

1. В условиях засухи на начальном этапе развития растений пшеницы, применение обработки семян эндофитными бактериями оказывает положительное влияние на рост и развития культуры.

2. Обработка семян биопрепаратами с эндофитными микроорганизмами приводит к значительному снижению поражения растений как корневыми гнилями, так и листовыми болезнями. При этом положительный эффект был на уровне или выше, чем для химического препарата Скарлет.

3. По показателю накопления хлорофилла выделялся химический препарат, а среди вариантов с эндофитными бактериями преимущество имел варианты с нормой 2,0 и 0,5 л/т.

4. Обработка семян биопрепаратом на основе эндофитных бактерий привело к значительному стимулированию площади листовой поверхности, превосходя по своему влиянию химический протравитель.

5. Обработка семян биопрепаратом в норме 1,5 и 2,0 л/т семян привело к более существенному росту урожайности в сравнении с использованием химического препарата и с показателями в контроле. Положительное влияние экспериментального биопрепарата на основе эндофитных бактерий было связано с густоты стояния растений, увеличением числа зерен и их массы.

6. Применение для обработки семян биопрепарата на основе эндофитных бактерий с нормами 1,5-2,0 л/т по своей экономической эффективности значительно превосходят данные для химического протравителя семян.

ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВУ

Использовать биопрепарат на основе штамма эндофитных бактерий *Bacillus subtilis* RECB-95B для дальнейших работ по получению биофунгицидов для яровой пшеницы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алимова, Ф.К. Промышленное применение грибов рода *Trichoderma* / Ф.К.Алимова. – Казань: Казанский государственный университет им.В.И.Ульянова-Ленина, 2006. – 209 с.
2. Амангельды, Н. Применение Экстрасола против болезни корневой гнили на яровой пшенице /Амангельды Н., Кочоров А.С., Агибаев А.Ж. //Аграрная наука - сельскому хозяйству. – Алтайский государственный аграрный университет. – 2017. – С. 48-50.
3. Артамонова М. Н. Роль бактериальных симбионтов в растительно-микробных ассоциациях/ М. Н. Артамонова, Н. И. Потатуркина-Нестерова, О. Е. Беззубенкова//Вестник Башкирского университета. – 2014. – Т. 19. – №1. – С.81-84.
4. Бухарин, О. В Ассоциативный симбиоз/ О. В. Бухарин, Е. С. Лобакова, Н. В. Немцева, С. В. Черкасов. – Екатеринбург: УрО РАН, 2007. – 264 с.
5. Гагкаева, Т.Ю. Фузариоз зерновых культур/ Гагкаева Т.Ю., Гаврилова О.П., Левитин М.М., Новожилов К.В.//Приложение к журналу Защита и карантин растений. – 2011. – №5. – 52 с.
6. Дружин, А.Е.Влияние изменений климата на структуру популяций патогенов яровой пшеницы в Поволжье/ А.Е.Дружин//Аграрный вестник Юго-Востока. – 2010. – № 1 (4). – С.31-35.
7. Дьяков, Ю.Т. Инвазии фитопатогенных грибов/Ю.Т. Дьяков//Материалы VII Всероссийской микологической школы-конференции с международным участием «Биотические связи грибов: мосты между царствами». Сборник докладов и тезисов. – М.: ЗБС МГУ, 2015. – С.39-49.
8. Захаренко, В.А. Биотехнологии и защита растений//Защита и карантин растений. – 2015. – №11. – С.3-8.

9. Левитин, М.М. Микроорганизмы в условиях глобального изменения климата/М.М. Левитин //Сельскохозяйственная биология. – 2015. – Том 50. – № 5. – С. 641-647.
10. Левитин, М.М. Распространение болезней растений в условиях глобального изменения климата/М.М. Левитин //Сельскохозяйственные науки и агропромышленный комплекс на рубеже веков. – 2016. – №3. – С.97-101.
11. Левитин, М.М. Защита растений от болезней при глобальном потеплении/Левитин М.М.//Защита и карантин растений. – 2012. – №8. – С.16-17.
12. Марченко, А. Б. Фузариозное увядание астры однолетней и ограничение его распространения / А. Б. Марченко // Защита и карантин растений. – 2017. – № 9. – С. 50-51.
13. Монастырский, О. А. Чем грозит глобальное потепление // Защита и карантин растений. – 2006. - № 2. – С. 18-20.
14. Монастырский, О.А. Токсинообразующие грибы и микотоксины/ О.А. Монастырский//Защита и карантин растений. – 2006. – №11. – С.18-20.
15. Мубинов И.Г. Реакции пшеницы на действие клеток эндофитного штамма 26Д *Bacillus subtilis* – основы биофунгицида фитоспорин. Автореф. дис. ... канд.биол. наук. Уфа: БГУ. 2007. 22 с.
16. Немченко, В.В. Влияние биопрепаратов и регуляторов роста на структуру урожая и продуктивность яровой пшеницы/ В.В. Немченко, М.Ю. Цыпышева //Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2014. – № 8 (118). – С. 5-8.
17. Никитин, С. Н. Эффективность применения биопрепаратов на яровой пшенице/ С. Н. Никитин, С. А. Захаров // Wschodnioeuropejskie Czasopismo Naukowe (East European Scientific Journal) .NAUKI ROLNICZE. – 2016. – № 7. – Р.165-168.
18. Привезенцев, С.Р. Влияние биопрепаратов Экстрасол и Бисолбифит на продуктивность пшеницы яровой в условиях Верхневолжского региона/ С.Р. Привезенцев, А.Л. Тарасов // Системы интенсификации земледелия

как основа инновационной модернизации аграрного производства. – Суздаль, 2016. – С. 267-269.

19. Сафин, Р.И. Управление вредными биологическими объектами /Р.И. сафин, Т.Г. Хадеев//Система земледелия Республики Татарстан. Инновации на базе традиций. Ч.1. Общие аспекты системы земледелия. Под ред. И.Х.Габдрахманова. – Казань: Центр инновационных технологий, 2013. – С.109-130.

20. Феоктистова, Н.В. Ризосферные бактерии //Ученые записки Казанского университета. Серия естественные науки/ Н.В. Феоктистова, А.М. Марданова, Г.Ф. Хадиева, М.Р. Шарипова. – 2016. – Т. 158, кн. 2. – С. 207–224.

21. Хайруллин Р.М. Повышение устойчивости пшеницы к абиотическим стрессам эндофитным штаммом *Bacillus subtilis*/ Хайруллин Р.М., Недорезков В.Д., Мубинов И.Г., Захарова Р.Ш. // Вестник Оренбургского гос. университета. 2007. № 2. С. 129-134.

22. Цыпышева, М.Ю. Эффективность применения биопрепаратов и листовых фунгицидов на яровой пшенице/ М.Ю. Цыпышева// Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2014. – № 4. – С. 51-53.

23. Широких А.А. Выделение и оценка биорегуляторных свойств эндофитных бактерий/ А.А.Широких, И.Г. Широких, С.Ю.Огородникова, О.В. Мерзаева// Теоретическая и прикладная экология. – 2008. – №3. – С.73-80.

24. Штерншис, М.В. Тенденции развития биотехнологии микробных средств защиты растений в России // Вестник Томского государственного университета. Биология. – 2012. – № 2 (18). – С. 92–100.

25. Bacilio-Jimenez, M. et al. (2003) Chemical characterization of root exudates from rice (*Oryza sativa*) and their effects on the chemotactic response of endophytic bacteria//Plant Soil 249, 271–277.

26. Bais, H.P. et al. (2004) How plants communicate using the underground information superhighway.// Trends Plant Sci. 9, 26–32

27. Barka, E.A. et al. (2006) Enhancement of chilling resistance of inoculated grapevine plantlets with a plant growth-promoting rhizobacterium, *Burkholderia phytofirmans* strain PsJN. //Appl. Environ. Microbiol. 72, 7246–7252.
28. Barraquio, W.L. et al. (1997) Isolation of endophytic diazotrophic bacteria from wetland rice. //Plant Soil 194, 15–24.
29. Battin, T.J. et al. (2007) Microbial landscapes: new paths to biofilm research.// Nat. Rev. Microbiol. 5, 76–81.
30. Bolwerk, A. Interactions in the tomato rhizosphere of two *Pseudomonas* biocontrol strains with the phytopathogenic fungus *Fusarium oxysporum* f. sp *radicis-lycopersici*/ A. Bolwerk, A.L. Lagopodi, A.H.M. Wijfjes, G.E.M. Lamers, T.F.C. Chin-A-Woeng, B.J.J. Lugtenberg, G.V. Bloemberg //Molecular Plant–Microbe Interactions. – 2003. – Vol. 16. – P. 983–993.
31. Chebotar V.K., Endophytic bacteria in microbial preparations that improve plant development (review) /Chebotar V.K., Malfanova N.V., Shcherbakov A.V., Ahtemova G.A., Borisov A.Y., Tikhonovich I.A., Lugtenberg B.//Applied Biochemistry and Microbiology. 2015. T. 51. № 3. C. 271-277.
32. Chi, F. et al. Ascending migration of endophytic rhizobia, from roots to leaves, inside rice plants and assessment of benefits to rice growth physiology. //Appl. Environ. Microbiol. 2005 71, 7271–7278.
33. Conrath, U. et al. (2006) Priming: getting ready for battle. //Mol. Plant Microbe Interact. 19, 1062–1071.
34. Czaban, J. et al. (2007) The motility of bacteria from rhizosphere and different zones of winter wheat roots. //Pol. J. Environ. Stud. 16, 301–308.
35. Danaei, M. Biological control of plant fungal diseases using volatile substances of *Streptomyces griseus*/ M. Danaei, A. Baghizadeh, S. Pourseyedi, J. Amini and M. M. Yaghoobi//European Journal of Experimental Biology. – 2014. – Vol. 4(1). – 334-339.
36. De Weert, S. et al. (2002) Flagella-driven chemotaxis towards exudate components is an important trait for tomato root colonization by *Pseudomonas fluorescens*. //Mol. Plant Microbe Interact. 15, 1173–1180.

37. Diekmann M. (1996) Diseases in seed production. Eds. Seed Science and Technology. Proc. Train-the-Trainers Workshop Sponsored by Med-campus Programme (EEC), 24Apr.-9 May 1993, Amman. Aleppo, Syria, ICARDA.– P.170-175.
38. Gopalakrishnan, S. Plant growth promoting rhizobia: challenges and opportunities/ S. Gopalakrishnan, A. Sathya, R. Vijayabharathi, R.K. Varshney, C.L.L. Gowda, L. Krishnamurthy//Biotech. – 2015.–Vol. 5(4). – 355–77.
39. Haggag W. M. (2010) Role of entophytic microorganisms in biocontrol of plant diseases. Life Science Journal. 7(2):57-62.
40. Hallmann, J. and Berg, G. (2006) Spectrum and population dynamics of bacterial root endophytes. In Microbial Root Endophytes (Schulz, B.J.E. et al., eds), pp. 15–31, Springer
41. Hallmann, J. et al. (1997) Bacterial endophytes in agricultural crops.// Can. J. Microbiol. 43, 895–914.
42. Hallmann, J., Quadt-Hallmann A., Mahaffee W. F. and Kloepper J. W. (1997).Bacterial endophytes in agricultural crops.Can. J. Microbiol. 43:895–914.
43. Hardoim P. R., van Overbeek L. S., Berg G., Pirttilä A. M., Compant S., Campisano A., et al. (2015) The hidden world within plants: ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 79:293–320.
44. Iniguez, A.L. et al. (2005) Regulation of enteric endophytic bacterial colonization by plant defenses//Mol. Plant Microbe Interact. 18, 169–178.
45. Kang H.W., Cho Y.G., Yoon U.H. and Eun M.Y. (1998). A rapid DNA extraction method for RFLP and PCR analysis from a single dry seed. Plant Mol. Biol. Rep. 16: 1-9.
46. Links M.G., Demeke T., Gräfenhan T., Hill J. E., Hemmingsen S. M. and Dumonceaux T. J. (2014). Simultaneous profiling of seed-associated bacteria and fungi reveals antagonistic interactions between microorganisms within a shared

piphytic microbiome on Triticum and Brassica seeds. *New Phytol.* 202(2): 542–553.

47. McCully, M.E. Niches for bacterial endophytes in crop plants: a plant biologist's view. // *Aust. J. Plant Physiol.* 2001. – 28, 983–990.

48. Meziane, H. Determinants of *Pseudomonas putida* WCS358 involved in inducing systemic resistance in plants/ Meziane H, van der Sluis I, van Loon LC, Höfte M, Bakker PAHM // *Molecular Plant Pathology.* – 2005. – Vol. 6. – P.177–185.

49. Palumbo J.D. Mutagenesis of β -1,3-glucanase genes in *Lysobacter* enzymogenes strain C3 results in reduced biological control activity toward *Bipolaris* leaf spot of tall fescue and *Pythium* damping-off of sugar beet/ J.D. Palumbo, G.Y. Yuen, C.C. Jochum, K. Tatum, D.Y. Kobayashi // *Phytopathology.* – 2005. – Vol. 95. – P.701–707.

50. Pillay, V.K. and Nowak, J. (1997) Inoculum density, temperature, and genotype effects on in vitro growth promotion and epiphytic and endophytic colonization of tomato (*Lycopersicon esculentum* L) seedlings inoculated with a pseudomonad bacterium. // *Can. J. Microbiol.* 43, 354–361.

51. Reinhold-Hurek, B. and Hurek, T. (1998) Life in grasses: diazotrophic endophytes// *Trends Microbiol.* 6, 139–144.

52. Rosenblueth, M. and Martinez-Romero, E. Bacterial endophytes and their interactions with hosts. // *Mol. Plant Microbe Interact.* (2006) 19, 827–837.

53. Schulz B., Boyle C. What are endophytes? *Microbial Root Endophytes* / Eds. C.J.C. Boyle, T.N. Sieber. Berlin: Springer_Verlag, 2006. P. 191–206.

54. Simons M., van der Bij A.J., Brand J., de Weger L.A., Wijffelman C.A., and Lugtenberg B.J.J. (1996) Gnotobiotic system for studying rhizosphere colonization by plant growth-promoting *Pseudomonas* bacteria. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 9: 600-607.

55. Singh, A. Use of Microbes: A Sustainable Approach in Management of Horticultural Crops/A. Singh, R. Hembrom, A. K. Pal// *Microbes and Environmental Management.* –2014. – P.45-47.

56. Sørensen, J. and Sessitsch, A. Plant-associated bacteria lifestyle and molecular interactions. In *Modern Soil Microbiology* (2nd edn) (van Elsas, J.D. et al., eds), 2006, pp. 211–236, CRC Press.
57. Stinson, A.M. Mycofumigation with *Muscodor albus* and *Muscodor roseus* for control of seedling diseases of sugar beet and verticillium wilt of eggplant/Stinson A.M., Zidack N.K., Strobel G.A., Jacobsen B.J. //Plant Disease. – 2003. – Vol. 87. – P.1349–1354.
58. Szczech, M. Biocontrol of Rhizoctonia damping-off of tomato by *Bacillus subtilis* combined with *Burkholderia cepacia*/ M. Szczech, M. Shoda// J. Phytopathol. – 2004.– Vol. 152. – P.549-556.
59. Validov S., Kamilova F., Qi S., Stephan S., Wang J.J., Makarova N., Lugtenberg B. (2007) Selection of bacteria able to control *Fusarium oxysporum* f.sp. *radices-lycopersici* in stonewool substrate. J. Appl. Microbiol. 102:461–471.
60. Van Oosten, M. J. The role of biostimulants and bioeffectors as alleviators of abiotic stress in crop plants/Michael James Van Oosten, Olimpia Pepe, Stefania De Pascale, Silvia Silletti and Albino Maggio //Chem. Biol. Technol. Agric. – 2017. – Vol.4:5. – 12 p. /DOI 10.1186/s40538-017-0089-5
61. Van Overbeek, L. and van Elsas, J.D. Effects of plant genotype and growth stage on the structure of bacterial communities associated with potato (*Solanum tuberosum* L.). //FEMS Microbiol. Ecol. 64, (2008) 283–296
62. Whipps, J. M. Biological control agents in plant disease control/ J. M. Whipps, M. McQuilken //Disease Control in Crops: Biological and Environmentally Friendly Approaches. – Blackwell Publishing Ltd ,2009. – P.27-61.
63. Wiest, A. Identification of peptaibols from *Trichoderma virens* and cloning of a peptaibol synthetase/ A. Wiest, D. Grzegorski, B.W. Xu, C. Goulard, S. Rebuffat, D.J. Ebbole, B. Bodo, C. Kenerley //Journal of Biological Chemistry. – 2002. – Vol. 70. – Vol. 70. 277. – 20862–20868.
64. Wu, L . Induction of systemic disease resistance in *Nicotiana benthamiana* by the cyclodipeptides cyclo (l- Pro- l- Pro) and cyclo (d- Pro- d- Pro)/

Wu, L., Wu, H., Chen, L., Zhang, H. & Gao, X. // Mol. Plant Pathol. – 2017. – Vol.18. – 67–74.

65. Xu, X.-M. Combined use of biocontrol agents to manage plant diseases in theory and practice/ Xu, X.-M., Jeffries, P., Pautasso, M., and Jeger, M. J.// Phytopathology. – 2011. – Vol. 101. – P. 1024-1031.

ДИСПЕРСИОННЫЙ АНАЛИЗ ОДНОФАКТОРНОГО ОПЫТА						
Культура:	яровая пшеница					
Фактор А:	обработка семян					
Год исследований:	2018					
Градация фактора		6				
Исследуемый показатель:			урожайность		т/га	
Количество повторностей:			4			
Руководитель						
			Таблица			
Фактор А	Повторность				Суммы	Средние
	1	2	3	4	V	
Контроль	2,44	2,19	2,59	2,22	9,44	2,36
Скарлет	3,15	2,91	3,34	2,76	12,16	3,04
<i>B. subtilis</i> (0,5 л/т)	2,88	2,57	3,05	2,62	11,12	2,78
<i>B. subtilis</i> (1,0 л/т)	3,23	2,85	3,38	2,85	12,32	3,08
<i>B. subtilis</i> (1,5 л/т)	3,32	3,03	3,47	2,82	12,64	3,16
<i>B. subtilis</i> (2,0 л/т)	3,41	3,20	3,54	2,84	13,00	3,25
суммы Р	18,43	16,76	19,38	16,12	70,68	
						70,68
Таблица дисперсионного анализа						
Дисперсия	Сумма квадр. отклонений	Число степ. свободы	Средний квадрат, s ²	F факт	F ₀₅	Достоверность
Общая	3,35	23,00				
Повторностей	1,12	3,00				
Вариантов	2,14	5,00	0,43	75,01	2,49	достоверно
Остаток	0,09	15,00	0,01			
Ошибка разности средних	0,05	т/га				
НСР ₀₅	0,11	т/га				