

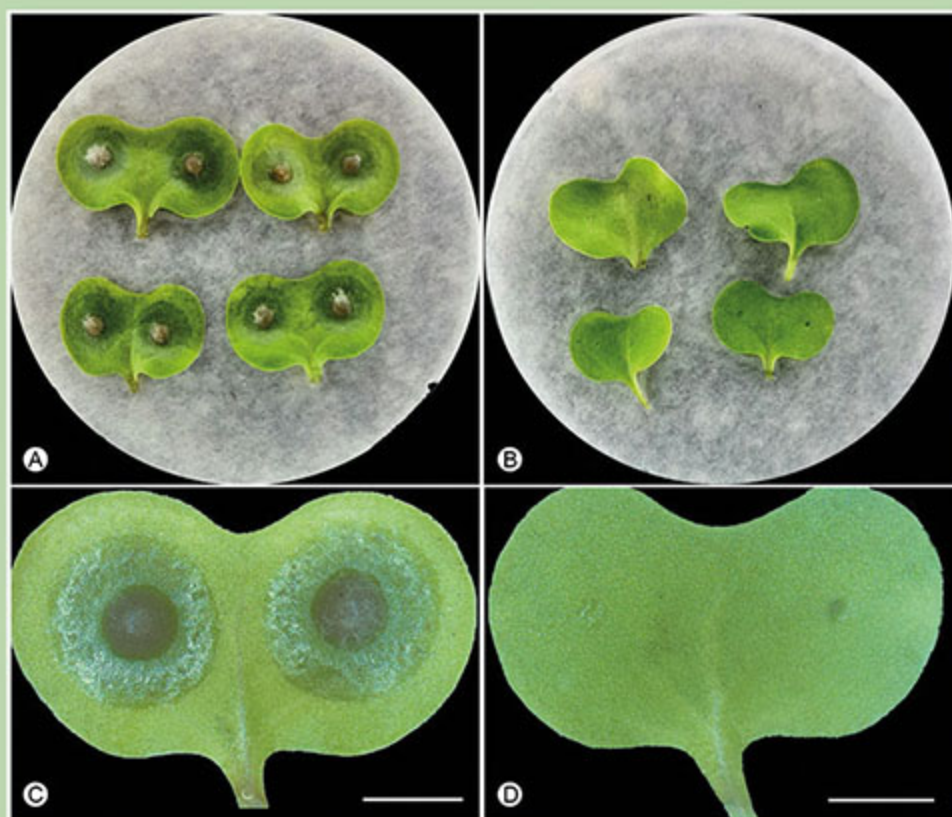


ISSN 1727-1320 (Print),
ISSN 2308-6459 (Online)

ВЕСТНИК ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

PLANT PROTECTION NEWS

2022 TOM VOLUME 105 ВЫПУСК ISSUE 3



Санкт-Петербург
St. Petersburg, Russia

**ФАКТОРЫ ПОВЫШЕНИЯ ИНДУЦИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ
ДВУХ ШТАММОВ *BACILLUS SUBTILIS* В ЗАЩИТЕ ПШЕНИЦЫ ОТ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ
ТЕМНО-БУРОЙ ПЯТНИСТОСТИ (*BIPOLARIS SOROKINIANA*)
И БУРОЙ РЖАВЧИНЫ (*PUCCINIA TRITICINA*)**

И.И. Новикова, Э.В. Попова, Н.М. Коваленко*, И.Л. Краснобаева

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург

* ответственный за переписку, e-mail: nadyakov@mail.ru

Цель работы состояла в оценке культуральной жидкости (КЖ) штаммов *Bacillus subtilis* ВКМ В-2604D и ВКМ В-2605D и ее компонентов (супернатанта и бактериальных клеток) в формировании индуцированной устойчивости пшеницы по отношению к темно-бурой пятнистости и бурой ржавчине, а также в установлении оптимальной концентрации бактериальных клеток и времени применения, определяющих эффективность лабораторных образцов, содержащих 0.1%-ный салицилат хитозана (СХ). Предполагается, что в составе КЖ и ее супернатанта присутствуют биологически активные метаболиты, обладающие элиситорной активностью и ответственные за проявление индуцированной устойчивости пшеницы к темно-бурой пятнистости и бурой ржавчине. Обработка листьев КЖ и СН уменьшала пораженность листьев пшеницы *Bipolaris sorokiniana* в 1.5–2 раза, а *Puccinia triticina* – на 20 и 10% по сравнению с контролем, соответственно, в то время как суспензия бактериальных клеток не подавляла развитие симптомов болезней. Наибольший индуцирующий эффект все образцы КЖ показали с титром 10^9 КОЕ/мл. Выявлено, что из всех вариантов применения образцов (за 1 и 2 суток до заражения и через 1 и 2 суток после заражения) наиболее эффективной была предварительная обработка растений пшеницы за одни сутки до инокуляции патогеном. Наиболее существенно повышала устойчивость пшеницы к болезням обработка растений пшеницы композицией КЖ + 0.1% СХ, что выразилось в снижении площади поражения листьев темно-бурой пятнистостью в 6 раз и бурой ржавчиной – в 10 раз по сравнению с контролем.

Ключевые слова: биологическая защита растений, лабораторный образец, Витаплан, культуральная жидкость, фунгистатический эффект, индуцированная устойчивость, салицилат хитозана

Поступила в редакцию: 29.04.2022

Принята к печати: 13.09.2022

Современное растениеводство ориентировано на разработку и внедрение экологически безопасных ресурсосберегающих технологий фитосанитарной оптимизации агроэкосистем. Такие агротехнологии предусматривают широкое использование комплекса полифункциональных биопрепаратов разного целевого назначения на основе штаммов микроорганизмов в качестве альтернативы химическим средствам защиты растений (Павлюшин и др., 2020). Биологический контроль наиболее перспективен для защиты сельскохозяйственных культур от болезней, повышения урожайности и улучшения качества продуктов питания при переходе к органическому и устойчивому сельскому хозяйству (Syed et al., 2018). Механизмы подавления фитопатогенных микроорганизмов обусловлены полифункциональностью действия штаммов микробов-антагонистов – способностью синтезировать биологически активные вещества (БАВ) различной природы (антибиотики, сидерофоры, гидролитические ферменты, летучие органические соединения, цианистый водород и др.). Они обеспечивают как прямой антагонизм в отношении фитопатогенов, так и индукцию системной болезнестойчивости растений (Павлюшин и др., 2020; Santoyo et al., 2012; Yu et al., 2015; Singh et al., 2017; Sehrawat et al., 2019; Jiao et al., 2021; Zehra et al., 2021; Wang et al., 2022).

Показано, что биологически активные вещества (БАВ) штаммов-продуцентов биопрепаратов подавляют развитие

фитопатогенных видов, снижая их вирулентность и агрессивность и, тем самым, сохраняют урожай (Sasirekha et al., 2016; Kumar et al., 2017; Ghazy et al., 2021).

Благодаря полифункциональности штаммов-продуцентов, современные биологические препараты сочетают в себе свойства биоудобрений, биостимуляторов и биопестицидов, обеспечивая устойчивое повышение урожайности сельскохозяйственных культур (De los Santos-Villalobos et al., 2020, 2021; Sendi et al., 2020; Pathak et al., 2021; Sehrawat et al., 2022). Применение полифункциональных биопрепаратов улучшает качество урожая, способствуя накоплению углеводов, белков, витаминов, макро- и микроэлементов в сельскохозяйственной продукции (Chakraborty et al., 2021).

Эффективность биопрепаратов на основе штаммов *B. subtilis* в борьбе с болезнями растений на основных сельскохозяйственных культурах продемонстрирована во многих работах в нашей стране и за рубежом. Например, штаммы бацилл эффективно подавляли распространение и развитие фузариозной и офиоболезной гнили, мучнистой росы, желтой и бурой ржавчины зерновых культур (Yang et al., 2015; Gao et al., 2015; Hui et al., 2013; Reiss et al., 2017).

Эффективность разработанных во Всероссийском институте защиты растений биопрепаратов в отношении распространения и развития основных вредоносных заболеваний сельскохозяйственных культур достигает 60–90%, что обеспечивает повышение продуктивности на 20–25%

и улучшение качества растениеводческой продукции (Новикова и др., 2017). С перспективами и проблемами применения биопрепаратов на основе штаммов *B. subtilis* в сельском хозяйстве для борьбы с болезнями растений можно ознакомиться в недавно опубликованных обзорах (Павлюшин и др., 2020; Chowdhury et al., 2015; Wang et al., 2018).

Биологическая эффективность препаратов на основе штаммов микробов-антагонистов обусловлена сложными механизмами, регулируемыми взаимоотношениями микроорганизмов в природе. Прямое биоцидное действие штаммов *B. subtilis* связывают с синтезом ими различных метаболитов с антибиотической активностью – антибиотиков, биосурфактантов, сидерофоров и др. (Сидорова и др., 2018; Zhi et al., 2017; Wang et al., 2018). Штаммы бацилл характеризуются многообразием метаболических процессов и способностью к синтезу БАВ, различающихся по химической природе и механизму действия (Павлюшин и др., 2020; Сидорова и др., 2018; Максимов и др., 2020). Показано, что штаммы *B. subtilis* образуют индивидуальный набор антибиотиков (полимиксин, циркулин и колистин), активный против фитопатогенных грибов *Alternaria solani*, *Aspergillus flavus*, *Botryosphaeria ribis*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum*, *Bipolaris maydis*, *Septoria arcuata* (Fira et al., 2018). Антимикробные вещества, как правило, действуют синергетически, обуславливая выраженный антипатогенный эффект (Duan et al., 2021). Например, высокая антагонистическая активность штамма *B. velezensis* FJAT-46737 в отношении нескольких фитопатогенов, включая бактерию *Ralstonia solanacearum* и гриб *F. oxysporum*, обусловлена секрецией липопептидов, состоящих из итуринов, фенгицинов и сурфактинов (Chen et al., 2020). Многие изоляты р. *Bacillus* продуцируют несколько противогрибных циклических липопептидов (CLP), включая представителей семейств сурфактина, итурина и фенгицина (Togges et al., 2016). Показано, что липопептиды, принадлежащие семействам итурина, фенгицина и сурфактина, наиболее важны в антагонистической активности ряда изолятов *Bacillus* в отношении фитопатогенных грибов у разных видов растений (Максимов и др., 2020; Masmoudi et al., 2017; Abdallah et al., 2017). Таким образом, важная составляющая защитного эффекта биопрепаратов – прямая антагонистическая активность штаммов-продуцентов в отношении фитопатогенных видов, обусловленная синтезом метаболитов, препятствующих заселению растений патогенами.

Все больше накапливается данных, свидетельствующих о том, что штаммы микробов-антагонистов могут подавлять заражение листьев фитопатогенами не только за счет антибиоза, но и за счет индукции системной устойчивости (Черепанова и др., 2019). Показано, что, помимо прямого антагонистического действия на клетки возбудителя, бациллы способны повышать болезнеустойчивость растений синтезируя соединения – элиситоры, благодаря которым происходит активация системной индуцированной устойчивости (induced systemic resistance (ISR) и системной приобретенной устойчивости (systemic acquired resistance (SAR)). (Максимов и др., 2020, 2015; Pieterse et al., 2014; Wang, 2018, Abdallah et al., 2017). Ассоциированные с растениями полезные сапротрофные микроорганизмы (*Bacillus* spp. и *Pseudomonas* spp.) индуцируют иммунную систему растений в ответ на внедрение патогена

через механизм активации запуска жасмонат-этиленового сигнального пути (JA/ET), опосредованного сигнальным белком NRP-1, и пути салициловой кислоты (SA) (Максимов и др., 2020; Llorens et al., 2017; Chowdhury и др., 2015; Alkoogane et al., 2017). Жасмоновая, салициловая кислоты и этилен составляют основу сигнальной сети, ответственной за координированный биохимический и физиологический защитный ответ на заражение патогеном (ISR или SAR). Элиситорами, запускающими защитные механизмы растения, могут быть белки, липопептиды, флагеллин, полисахариды и другие соединения, ассоциированные с клеточной стенкой *B. subtilis* (Максимов и др., 2015; Maksimov et al., 2014). В потоке работ, характеризующих способность бактерий индуцировать защитные системы растений, особый интерес представляет информация о регуляции липопептидами функционирования компонентов фитозащитной системы (Максимов и др., 2020).

В настоящее время усилия многих исследователей направлены на разработку методов повышения эффективности биопрепаратов. По нашему мнению, этой цели можно достичь за счет усиления индуцирующей активности штамма – продуцента путем включения в состав препаративной формы природных или синтетических активаторов болезнеустойчивости. Это направление исследований активно развивается в лаборатории микробиологической защиты ВИЗР. В основание такого подхода легло предположение, что высокий защитный эффект таких комплексных биопрепаратов будет обусловлен сочетанием антагонистических свойств штамма микроорганизма со способностью индуктора устойчивости совместно с биологически активными веществами активизировать механизмы естественной устойчивости растений к патогенам.

В нашей стране широко известен биопрепарат Витаплан, СП, разработанный в ВИЗР на основе высокоактивных штаммов *B. subtilis* (ВКМ В-2604D и ВКМ В-2605D), который используется для защиты сельскохозяйственных культур от грибных и бактериальных болезней (Новикова и др., 2011, 2013; Novikova et al., 2017). Для усиления биологической активности биопрепаратов, на наш взгляд, целесообразно включить в препаративную форму в качестве индуктора устойчивости природный полисахарид хитозан или его производное. Для создания таких комплексных биопрепаратов в качестве индуктора был использован салицилат хитозана. В ранее проведенных исследованиях была выявлена высокая активность салицилата хитозана, индуцирующая устойчивость к бурой ржавчине и темно-бурой пятнистости пшеницы (Попова и др., 2018). Обработка салицилатом хитозана (0.1%) вегетирующих растений пшеницы уменьшала степень поражения растений корневой гнилью на 79.0%, желтой ржавчиной – на 29.1% и полностью подавляла развитие мучнистой росы в период вегетации растений (Колесников и др., 2022).

Учитывая потребность сельского хозяйства в расширении ассортимента микробиологических средств защиты растений, проблема повышения биологической эффективности биопрепаратов представляется актуальной.

В нашей работе для оценки перспективности включения в состав препаративной формы индуктора болезнеустойчивости использован лабораторный образец в виде культуральной жидкости (КЖ), полученный при глубинном культивировании штаммов-продуцентов *B. subtilis*

ВКМ В-2604D и *B. subtilis* ВКМ В-2605D на среде с добавлением салицилата хитозана (СХ).

Цель работы состоит в том, чтобы оценить вклад КЖ штаммов *B. subtilis* ВКМ В-2604D и ВКМ В-2605D и ее отдельных компонентов (супернатант и суспензия

бактериальных клеток) в формирование индуцированной устойчивости пшеницы по отношению к темно-бурой пятнистости и бурой ржавчине, а также определить оптимальный срок применения изучаемых лабораторных образцов.

Материалы и методы

В работе использовали яровую пшеницу *Triticum aestivum* L. сорта Саратовская 29. Для заражения использовали возбудителей темно-бурой пятнистости *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker и бурой ржавчины *Puccinia triticina* Erikss. – наиболее вредоносных болезней пшеницы. Штаммы фитопатогенных микромицетов взяты из «Государственной коллекции микроорганизмов, патогенных для растений и их вредителей» Центра коллективного пользования научным оборудованием «Инновационные технологии защиты растений» ФГБНУ ВИЗР.

В работе использовали КЖ, полученную при глубинном культивировании штаммов-продуцентов препарата Витаплан, СП – *B. subtilis* ВКМ В-2604D и *B. subtilis* ВКМ В-2605D на среде с добавлением СХ.

Глубинное культивирование штаммов *B. subtilis* ВКМ В-2604D и ВКМ В-2605D проводили при 28 °С в течение 72 ч на питательной среде следующего состава (г/л): кукурузный экстракт – 30, меласса – 15, рН – 7.2 в колбах объемом 750 мл с 100 мл среды на круговой качалке при 220 об./мин. Титр полученной культуральной жидкости составил 10¹⁰ КОЕ/мл.

Схема опыта предусматривала следующие варианты:

1. Контроль (вода).
2. КЖ штаммов *B. subtilis* ВКМ В-2604D и *B. subtilis* ВКМ В-2605D при соотношении 1:1 (КЖ *B. subtilis* ВКМ В-2604D + ВКМ В-2605D).
3. КЖ *B. subtilis* ВКМ В-2604D + ВКМ В-2605D + 0.1 % СХ. При получении образца в питательную среду для глубинного культивирования добавляли 0.1 % СХ.
4. Композиция КЖ *B. subtilis* ВКМ В-2604D + ВКМ В-2605D + 0.1 % СХ. К 72-часовой культуральной жидкости, разведенной дистиллированной водой в 10 раз (титр 10⁹ КОЕ/мл), добавляли СХ до концентрации 0.1 %.
5. СХ 0.1 %.

СХ получали из хитозана с молекулярной массой 60 кДа со степенью деацетиляции 85 % («Биопрогресс», Россия) согласно методу (Попова и др., 2021). Титр жизнеспособных клеток в образцах определяли стандартным методом десятикратных серийных разведений с высевом на СПА (сухой питательный агар для культивирования микроорганизмов (АО «НПО «Микроген») и последующим подсчетом числа выросших колоний (ОФС.1.7.2.0008.15).

Изучение прямого фунгистатического действия исследуемых образцов проводили *in vitro* методом агаровых блоков. В стерильные чашки Петри разливали охлажденную до 40 °С агаризованную среду Чапека. После застывания на поверхность среды равномерно наносили суспензию испытуемых образцов препаратов (0.2 мл), а затем помещали блоки 10-суточных культур *B. sorokiniana* диаметром 6 мм, вырезанные стерильным сверлом из мицелиальных газонов грибов, выращенных на агаре Чапека в течение 8–10 суток. В качестве контроля использовали чашки с агаризованной средой Чапека с блоками тест-культуры без испытуемых образцов препаратов. Чашки инкубировали

в темноте при 25 °С. Диаметр колоний гриба измеряли на 7-е сутки культивирования, после чего оценивали фунгистатическое действие образцов по формуле Эббота (Андреева, 1990).

Опыты по оценке иммуномодулирующей активности исследуемых образцов проводили методом отделенных листьев (Михайлова и др., 2012). Семисуточные проростки мягкой пшеницы восприимчивого сорта Саратовская 29 опрыскивали растворами лабораторных образцов (из расчета 30 мл на 100 растений), согласно схеме опыта, за 24 ч до инокуляции патогеном – гембиотрофом *B. sorokiniana* (4×10³; 2×10⁴ спор/мл) или биотрофом *P. triticina* (2000 пу-стул/мл). Концентрация клеток (титр) штаммов *B. subtilis* ВКМ В-2604D и ВКМ В-2605D в образцах составляла от 10⁷ до 10⁹ КОЕ/мл). На следующий день готовили газоны, нарезая и укладывая листья плотным слоем в кювете (30×30 см) на стеклянной пластине, покрытой фильтровальной бумагой. Затем кювету опрыскивали взвесью спор по 10 мл, и оставляли в темноте на сутки. Время заражения считали началом опыта. На следующий день аккуратно добавляли раствор бензимидазола (0.004%), который поддерживает метаболизм в отрезках листьев пшеницы на уровне, при котором тип реакции к возбудителю соответствует таковому для интактных растений. Пораженность листьев оценивали на 4-е сутки после заражения *B. sorokiniana* и на 7-е сутки после заражения *P. triticina* по интенсивности развития болезни в % согласно описанию (Михайлова и др., 2012). В контроле растения обрабатывали водой.

Влияние полученных лабораторных образцов на прорастание конидий *B. sorokiniana* изучали в капле раствора образца (200 мкл). Для этого 0.1 мл раствора образца наносили на предметное стекло, добавляли 0.1 мл спор *B. sorokiniana* и выдерживали в темноте при 22 °С во влажной камере в течение 24 ч. Прорастание конидий оценивали микроскопированием, просматривая не менее 200 конидий в варианте и в контроле (в воде) и определяя долю проросших спор.

КЖ высокоактивных штаммов *Bacillus subtilis* ВКМ В-2604D и ВКМ В-2605D получали методом глубинного культивирования. КЖ состоит из вегетативных клеток и спор *B. subtilis*, остатков питательной среды, а также метаболитов, выделенных в среду микроорганизмами в процессе ферментации.

Супернатант (СН) – бесклеточная надосадочная жидкость, полученная путем центрифугирования КЖ при 7000 об/мин. в течение 15 минут и отделения осадка клеток.

Суспензия бактериальных клеток (СБК) – водная суспензия промытых стерильной водой клеток, полученных центрифугированием КЖ с титром 10⁹ КОЕ/мл.

Все опыты проводили в 3-кратной повторности, полученные данные обрабатывали с использованием методов описательной статистики на основе, наименьшей существенной разности НСР при $p < 0.05$.

Результаты

В ранее проведенных нами исследованиях обнаружена способность КЖ высокоактивных штаммов *Bacillus subtilis* ВКМ В-2604D и ВКМ В-2605D индуцировать системную устойчивость пшеницы по отношению к темно-бурой пятнистости. Опрыскивание растений пшеницы КЖ этих штаммов с титром 10^9 КОЕ/мл, предшествующее последующему заражению возбудителем темно-бурой

пятнистости *B. sorokiniana* снижало площадь поражения листьев на 20% (Новикова и др., 2021). В настоящей работе использование данной концентрации бактериальных клеток позволило подтвердить данный результат и показать аналогичный эффект в отношении бурой ржавчины (табл. 1).

Таблица 1. Влияние культуральной жидкости (КЖ) *Bacillus subtilis* ВКМ В-2604D + ВКМ В-2605D (КЖ), супернатанта (СН) и суспензии бактериальных клеток (СБК) на устойчивость пшеницы к темно-бурой пятнистости и бурой ржавчине (опрыскивание за одни сутки до заражения)

№ п/п	Вариант	Титр бактериальных клеток, КОЕ/мл	Пораженность листьев, %		
			Темно-бурая пятнистость		Бурая ржавчина
			2×10^4 спор/мл	4×10^3 спор/мл	
1	Контроль (вода)	-	60	30	60
2	КЖ	10^9	40	15	40
3	СН	-	40	15	50
4	СБК	10^9	50	30	60
	НСР _{0.05}		4.5	5.0	6.0

Table 1. The influence of the cultural liquid (CL) of *Bacillus subtilis* VKM B-2604D + VKM B-2605D, cell-free supernatant (CFS) and bacterial cell suspension (BCS) on wheat resistance to spot blotch and leaf rust, spraying one day before the inoculation

#	Experimental variant	Bacterial cell concentration, CFU/mL	Leaf infestation, %		
			spot blotch		Leaf rust
			2×10^4 spore/ml	4×10^3 spore/ml	
1	Control (water)	-	60	30	60
2	CL	10^9	40	15	40
3	CFS	-	40	15	50
4	BCS	10^9	50	30	60
	LSD _{0.05}		4.5	5.0	6.0

Установлено, что развитие темно-бурой пятнистости и бурой ржавчины на листьях пшеницы снижалось после предварительной обработки растений КЖ и СН. В обоих вариантах опыта пораженность листьев возбудителем *B. sorokiniana* снижалась в 1.5–2 раза в зависимости от инфекционной нагрузки по сравнению с контролем. Обработка листьев КЖ и СН также уменьшала пораженность листьев пшеницы бурой ржавчиной на 20 и 10% по сравнению с контролем, соответственно (табл. 1). СБК не подавляла развитие симптомов болезней.

Согласно поставленной цели, было проведено сравнительное изучение биологической эффективности новых лабораторных образцов, содержащих в своем составе, помимо биологически активных бактериальных метаболитов, СХ или его олигомеры: КЖ *B. subtilis* ВКМ В-2604D + ВКМ В-2605D + 0.1% СХ и композиция КЖ *B. subtilis* ВКМ В-2604D + ВКМ В-2605D + 0.1% СХ.

Известно, что при оценке качества биопрепарата главный показатель – антагонистическая активность, которая определяется соединениями, подавляющими или замедляющими рост и развитие фитопатогенных грибов и других микроорганизмов. Поэтому, в первую очередь, была проведена оценка антагонистической активности полученных новых образцов с титром 10^9 КОЕ/мл по отношению к возбудителю темно-бурой пятнистости пшеницы *in vitro* (табл. 2).

Установлена высокая фунгистатическая активность КЖ *B. subtilis* ВКМ В-2604D + ВКМ В-2605D, которая составляла 73.3% на 7-е сутки опыта. При добавлении в среду для глубинного культивирования 0.1% СХ (КЖ *B. subtilis* ВКМ В-2604D + ВКМ В-2605D + 0.1% СХ) высокая антигрибная активность сохранялась (70.8%). Композиция КЖ *B. subtilis* ВКМ В-2604D + ВКМ В-2605D + 0.1% СХ, полученная путем включения СХ в КЖ, ингибировала мицелиальный рост аскомицета до 57.5%. Снижение фунгистатической активности композиции по сравнению с КЖ *B. subtilis* ВКМ В-2604D + ВКМ В-2605D на 7-е сутки культивирования, во-видимому, связано с влиянием 0.1% СХ, обладающим невысоким фунгистатическим эффектом (38.6%).

Поскольку споры грибов – главный источник инфицирования растений, то для развития болезни большое значение имеет доля проросших спор. Данные, представленные в таблице 2, показывают, что КЖ *B. subtilis* ВКМ В-2604D + ВКМ В-2605D в 1.8 раз снижала прорастание конидий *B. sorokiniana* (47.6%) по сравнению с контролем (85.2%). Образец КЖ + 0.1% СХ также ингибировал прорастание конидий аскомицета на 50.0% по сравнению с контролем. Экспериментально установлен высокий ингибирующий эффект на прорастание конидий *B. sorokiniana* для композиции КЖ + 0.1% СХ, которая практически в 10 раз снижала количество проросших конидий гриба. Если в контроле через 24 ч. проросло 85.2%, то в опыте

Таблица 2. Фунгистатическая активность лабораторных образцов культуральной жидкости (КЖ) *Bacillus subtilis* ВКМ В-2604D + ВКМ В-2605D и салицилата хитозана (СХ) по отношению к возбудителю темно-бурой пятнистости пшеницы *Bipolaris sorokiniana*

№ п/п	Вариант опыта	Ингибирование роста мицелия <i>B. sorokiniana</i> , % к контролю, 7 сут.	Доля проросших конидий <i>B. sorokiniana</i> за 24 ч, %
1	Контроль (вода)	–	85.2
2	0.1 % СХ	38.6	3.3
2	КЖ	73.3	47.6
3	КЖ + 0.1 % СХ*	70.8	50.0
4	Композиция КЖ + 0.1 % СХ**	57.5	9.0
	НСР _{0.5}	3.8	4.3

* СХ включали в среду при глубинном культивировании бактерий.

** СХ добавляли в КЖ.

Table 2. Fungistatic activity of laboratory samples of *Bacillus subtilis* strains VKM B-2604D + VKM B-2605D culture liquid (CL) and chitosan salicylate (CS) against the agent spot blotch of wheat *Bipolaris sorokiniana*

№ п/п	Experimental variant	<i>B. sorokiniana</i> mycelium growth inhibition, % in relation to the control, 7 th day	Proportion of germinated conidia of <i>B. sorokiniana</i> , 24 h, %
1	Control (water)	–	85.2
2	0.1 % CS	38.6	3.3
2	CL	73.3	47.6
3	CL + 0.1 % CS*	70.8	50.0
4	The composition CL + 0.1 % CS**	57.5	9.0
	LSD _{0.5}	3.8	4.3

* CS added during submerged cultivation of the bacteria.

** CS added to CL.

обнаружено только 9.0% проросших конидий (табл. 2). По-видимому, такая высокая ингибирующая активность композиции обусловлена включением в КЖ данной композиции 0.1% СХ, который активно сдерживал прорастание конидий аскомицета – количество проросших спор в варианте опыта с СХ через сутки составило всего 3.3%.

Предварительные результаты исследования показали, что новые образцы проявляют повышенную фунгистатическую активность в отношении аскомицета *B. sorokiniana*.

Известно, что биологическая активность биопрепаратов зависит от плотности бактериальных клеток и времени их применения (до заражения патогеном или после) (Zhang, 2010). Поэтому следующим этапом наших исследований было определение оптимальной концентрации бактериальных клеток в новых образцах и оптимального

времени для проявления их биологической эффективности в отношении темно-бурой пятнистости и бурой ржавчины пшеницы.

Выявлена зависимость индуцирующей активности опытных образцов от концентрации бактериальных клеток. Из всех испытанных концентраций бактериальных клеток (10^7 – 10^9 КОЕ/мл) КЖ была наиболее эффективной (титр клеток 10^9 КОЕ/мл) и подавляла развитие темно-бурой пятнистости и бурой ржавчины на 20% по отношению к контролю (табл. 3). Образец КЖ + 0.1% СХ показал наибольшую индуцирующую активность также при плотности клеток 10^9 КОЕ/мл. Высокий индуцирующий эффект композиции КЖ *B. subtilis* ВКМ В-2604D + ВКМ В-2605D + 0.1% СХ сохранялся в диапазоне концентрации клеток 10^7 – 10^9 КОЕ/мл, снизив развитие темно-бурой пятнистости

Таблица 3. Влияние плотности клеток *Bacillus subtilis* на индуцирующую активность опытных образцов культуральной жидкости (КЖ) (опрыскивание за 1 сут до заражения), в том числе в присутствии салицилата хитозана (СХ)

№ п/п	Вариант опыта	Плотность клеток, КОЕ/мл	Поражение листьев, %	
			Темно-бурая пятнистость	Бурая ржавчина
1	Контроль (вода)	–	50	70
2	КЖ (1:10)	10^9	30	50
3	КЖ (1:100)	10^8	50	70
4	КЖ (1:1000)	10^7	60	75
5	КЖ (1:10) + 0.1 % СХ*	10^9	20	40
6	КЖ (1:100) + 0.1 % СХ*	10^8	40	60
7	КЖ (1:1000) + 0.1 % СХ*	10^7	50	60
8	Композиция КЖ (1:10) + 0.1 % СХ**	10^9	10	10
9	Композиция КЖ (1:100) + 0.1 % СХ**	10^8	15	15
10	Композиция КЖ (1:1000) + 0.1 % СХ**	10^7	20	15
	НСР _{0.05}		4.5	9.0

Обозначения, как в таблице 2.

Table 3. Effect of *Bacillus subtilis* cell density on the inducing activity of experimental samples of culture liquid (CL) sprayed one day before inoculation, including the addition of chitosan salicylate (CS)

#	Experimental variant	Cell density, CFU/mL	Leaf infestation, %	
			Spot blotch	Leaf rust
1	Control (water)	-	50	70
2	CL (1:10)	10 ⁹	30	50
3	CL (1:100)	10 ⁸	50	70
4	CL (1:1000)	10 ⁷	60	75
5	CL (1:10) + 0.1 % CS*	10 ⁹	20	40
6	CL (1:100) + 0.1 % CS*	10 ⁸	40	60
7	CL (1:1000) + 0.1 % CS*	10 ⁷	50	60
8	The composition CL (1:10) + 0.1 % CS**	10 ⁹	10	10
9	The composition CL (1:100) + 0.1 % CS**	10 ⁸	15	15
10	The composition CL (1:1000) + 0.1 % CS**	10 ⁷	20	15
	LSD _{0.05}		4.5	9.0

Designations as in Table 2.

в 3–5 раз, а бурой ржавчины – в 5–7 раз, но наибольшую эффективность образец показал также в варианте с титром клеток 10⁹ КОЕ/мл.

При оценке влияния времени обработки новыми образцами на развитие листовых болезней пшеницы выявлены различия в индуцирующей активности образцов в отношении устойчивости пшеницы к темно-бурой пятнистости и бурой ржавчине при их применении за 1 и 2 дня до заражения и через 1 и 2 день после заражения (табл. 4). Из всех вариантов применения образцов (до и после заражения) предварительная обработка за одни сутки до инокуляции патогеном была наиболее эффективной, значительно снижающей развитие болезней.

Предварительная (за одни сутки до инокуляции патогеном) обработка растений пшеницы КЖ с последующим заражением снижала площадь поражения листьев темно-бурой пятнистостью на 30%, а бурой ржавчиной – на 20% по сравнению с контролем. Добавление СХ к КЖ значительно повысило индуцирующую активность

культуральной жидкости. Опрыскивание растений пшеницы образцом КЖ + 0.1 % СХ сокращало пораженность листьев темно-бурой пятнистостью на 40%, а бурой ржавчиной – на 30%. Для улучшения индуцирующей активности композиции нами был использован СХ, который способен индуцировать системную устойчивость к патогенам самостоятельно или в сочетании с метаболитами КЖ. Результаты подтвердили наше предположение. Композиция КЖ + 0.1 % СХ наиболее эффективно повышала устойчивость пшеницы к темно-бурой пятнистости, что выразилось в снижении площади поражения листьев в 6 раз, а бурой ржавчиной – в 10 раз по отношению к контролю. Использование СХ также существенно снизило площадь поражения листьев при опрыскивании за сутки до заражения, однако хорошо известно, что применение индукторов болезнеустойчивости на уже зараженных растениях неэффективно (Васюкова, Озерецковская, 2007, Васюкова и др., 2010).

Таблица 4. Влияние времени обработки лабораторными образцами культуральной жидкости (КЖ) *Bacillus subtilis* ВКМ В-2604D + ВКМ В-2605D и салицилата хитозана (СХ) на устойчивость пшеницы к темно-бурой пятнистости и бурой ржавчине при концентрации бактериальных клеток 10⁹ КОЕ/мл

№ п/п	Вариант опыта	Время опрыскивания растений	Площадь поражения листьев, %	
			Темно-бурая пятнистость	Бурая ржавчина
1	Контроль (без опрыскивания)	-	60	50
2	КЖ	За 2 суток до заражения	50	40
3	КЖ	За 1 сутки до заражения	30	30
4	КЖ	Через 1 сутки после заражения	50	40
5	КЖ	Через 2 суток после заражения	60	50
6	КЖ + 0.1 % СХ*	За 2 суток до заражения	30	25
7	КЖ + 0.1 % СХ*	За 1 сутки до заражения	20	20
8	КЖ + 0.1 % СХ*	Через 1 сутки после заражения	40	30
9	КЖ + 0.1 % СХ*	Через 2 суток после заражения	60	50
10	Композиция КЖ + 0.1 % СХ**	За 2 суток до заражения	25	10
11	Композиция КЖ + 0.1 % СХ**	За 1 сутки до заражения	10	5
12	Композиция КЖ + 0.1 % СХ**	Через 1 сутки после заражения	40	30
13	Композиция КЖ + 0.1 % СХ**	Через 2 суток после заражения	50	40
14	0.1 % СХ	За 1 сутки до заражения	5	3
	HCP _{0.05}		4.5	9.0

Обозначения, как в таблице 2.

Table 4. Effect of treatment time of laboratory samples of *Bacillus subtilis* strains VKM B-2604D + VKM B-2605D culture liquid (CL) and chitosan salicylate (CS) on resistance of wheat to spot blotch and leaf rust at the bacterial cell concentration 10^9 CFU/mL

#	Experimental variant	Plant spraying timing	Square of leaf infestation, %	
			Spot blotch	Leaf rust
1	Control (no spraying)	-	60	50
2	CL	2 days before inoculation	50	40
3	CL	1 day before inoculation	30	30
4	CL	1 day after inoculation	50	40
5	CL	2 days after inoculation	60	50
6	CL + 0.1 % CS*	2 days before inoculation	30	25
7	CL + 0.1 % CS*	1 day before inoculation	20	20
8	CL + 0.1 % CS*	1 day after inoculation	40	30
9	CL + 0.1 % CS*	2 days after inoculation	60	50
10	The composition CL + 0.1 % CS**	2 days before inoculation	25	10
11	The composition CL + 0.1 % CS**	1 day before inoculation	10	5
12	The composition CL + 0.1 % CS**	1 day after inoculation	40	30
13	The composition CL + 0.1 % CS**	2 days after inoculation	50	40
14	0.1 % CS	1 day before inoculation	5	3
LSD _{0.05}			4.5	9.0

Designations as in Table 2.

Обсуждение

Результаты сравнительной оценки участия КЖ штаммов *B. subtilis* VKM B-2604D и VKM B-2605D и ее компонентов (СН и СБК) показали, что обработка пшеницы СН и КЖ снижала пораженность листьев темно-бурой пятнистостью в 1.5–2 раза, а бурой ржавчиной на 20 и 10% по сравнению с контролем. СБК не оказала влияния на развитие болезней. Это позволяет предположить, что изучаемые штаммы-продуценты *B. subtilis* способны синтезировать метаболиты, обладающие индуцирующей активностью. По всей видимости, в составе КЖ и ее СН присутствуют биологически активные метаболиты, обладающие элиситорной активностью и ответственные за проявление индуцированной устойчивости пшеницы к темно-бурой пятнистости и бурой ржавчине. Важно отметить, что наибольшей индуцирующей активностью обладала именно КЖ.

Полученные данные согласуются с исследованиями Крючковой (Kriuchkova, 2017), которая показала, что предварительная обработка культуральным фильтратом штамма *Bacillus amyloliquefaciens* IMV B-7404 снижает пораженность листьев ячменя грибом *B. sorokiniana*, а применение СБК не уменьшает развития болезни. Аналогичные результаты получены в других работах, где авторы установили, что именно в бесклеточном культуральном фильтрате *B. subtilis* содержатся метаболиты, обладающие элиситорной активностью и вызывающие индуцированную устойчивость томата к фузариозному вилту (Акрам, 2014) и риса к бактериальной пятнистости (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Akhtar, 2020).

Новые образцы КЖ *B. subtilis* VKM B-2604D + VKM B-2605D + 0.1 % СХ и композиция КЖ *B. subtilis* VKM B-2604D + VKM B-2605D + 0.1 % СХ были получены в виде КЖ, которая содержала комплекс активных бактериальных метаболитов и, дополнительно, СХ и олигомеры хитозана. Все новые образцы КЖ *B. subtilis* VKM B-2604D + VKM B-2605D проявляли повышенную ингибирующую активность в отношении прорастания конидий аскомицета

B. sorokiniana. Однако стоит отметить, что существуют значительные различия между испытанными вариантами в эффективности подавления прорастания спор гриба *B. sorokiniana*, которые играют главную роль в инфекционном процессе. Композиция КЖ *B. subtilis* VKM B-2604D + VKM B-2605D + 0.1 % СХ в 10 раз эффективнее ингибировала прорастание конидий по отношению к контролю, тогда как исходный КЖ *B. subtilis* VKM B-2604D + VKM B-2605D без СХ и образец КЖ *B. subtilis* VKM B-2604D + VKM B-2605D + 0.1 % СХ только вдвое снижали прорастание конидий по сравнению с контролем.

Согласно исследованиям Шенина с соавт. (1995) и Новиковой с соавт. (2011), высокая биологическая эффективность биопрепарата Витаплан обусловлена синтезом штаммами *B. subtilis* метаболитных комплексов сложного состава, включающего пептидные и полиеновые антибиотики, обладающие антибактериальной и антигрибной активностью. Установленная в работе высокая фунгистатическая активность всех образцов КЖ по отношению к *B. sorokiniana* (табл. 2), по видимому, определяется синтезом штаммами *B. subtilis* антибиотических веществ, подавляющих или замедляющих рост фитопатогена. Высокая способность подавлять прорастание конидий, очевидно, обусловлена наличием в КЖ метаболитов с фунгицидной активностью. Повышенная активность композиции КЖ *B. subtilis* VKM B-2604D + VKM B-2605D, проявляющаяся в ингибировании прорастания конидий патогена, усиливается добавлением в состав КЖ салицилатом хитозана.

Скорее всего, этот эффект связан с тем, что СХ также может обладать прямым действием на патогена, блокируя прорастание спор, поскольку хитозан – пленкообразующий полимер. Нанесенный на листья растений, он может задерживать проникновение и развитие микроорганизмов (Луньков, 2019). Это согласуется с проведенными ранее гистологическими исследованиями, которые показали, что на поверхности плодов цитрусовых, обработанных хитозаном, наблюдалось ограничение роста патогена и

нарушение структуры его гиф (Benhamou, 2004), и подтверждено нашими результатами по ингибированию прорастания конидий *B. sorokiniana*.

В литературе накапливается все больше данных, свидетельствующих о том, что микробы-антагонисты могут подавлять инвазию патогенов как за счет антибиоза, так и за счет активации системной индуцированной устойчивости (ISR) и системной приобретенной устойчивости (SAR) (Черепанова и др., 2019; Vlot et al., 2020). Эти два защитных механизма используют разные пути метаболизма растений; SAR требует синтеза салициловой кислоты (SA), которая, в свою очередь, запускает экспрессию хорошо известного набора генов, связанных с патогенезом (PR), в то время как ISR зависит от передачи сигналов жасмоновой кислоты (JA) и этилена (ET) (Vlot et al., 2009; Pieterse et al., 2014).

Индукцированный иммунитет базируется на активации элиситорами каскада защитных реакций самого растения – хозяина. Индуцируемые элиситорами защитные реакции включают генерацию активных форм кислорода (АФК) (Smith et al., 2014), синтез каллозы, укрепление клеточной стенки лигнином, развитие реакции сверхчувствительности, которая вызывает гибель растительных клеток и патогена в зоне его внедрения (Shen et al., 2019), индукцию генов, вовлеченных в синтез защитных белков (PR-белков) с антимикробной (тионины, дефензины, ингибиторы протеиназ) и литической активностью (хитиназы, глюканазы) (Park et al., 2016), повышение активности многих ферментов, связанных с защитой, особенно оксидоредуктаз (пероксидаз, липоксигеназ, полифенолоксидаз, фенилаланин-лиаз) (Rais et al., 2017), а также индукцию фенол-пропаноидного пути и повышение уровня фитоалексинов (Reis et al., 2004). Все известные молекулярные механизмы формирования фитоиммунитета обсуждаются в следующих обзорах (Карпун и др., 2015; Шафикова и др., 2015; Максимов и др., 2015; Кабашников, 2020; Park et al., 2016; Azmina et al., 2020).

Проблема эффективного применения элиситоров заключается в необходимости быстрой индукции собственных защитных механизмов растения. Следовательно, стратегия применения индукторов устойчивости должна осуществляться путем предварительной обработки вегетирующих растений таким образом, чтобы активировать в растениях реакции защиты, развитие которых зависит от времени их применения. Установлено, что из всех вариантов применения образцов КЖ *B. subtilis* ВКМ В-2604D + ВКМ В-2605D с титром 10^9 КОЕ/мл обработка за сутки до инокуляции фитопатогеном оказалась наиболее эффективной. Предварительная обработка растений пшеницы КЖ *B. subtilis* ВКМ В-2604D + ВКМ В-2605D с последующим заражением возбудителем темно-бурой пятнистости снижала площадь поражения листьев темно-бурой пятнистостью на 30%, а бурой ржавчиной – на 20% по сравнению с контролем. Опрыскивание растений пшеницы образцом КЖ *B. subtilis* ВКМ В-2604D + ВКМ В-2605D + 0.1% СК сокращало пораженность листьев болезнями на 30%. Композиция КЖ *B. subtilis* ВКМ В-2604D + ВКМ В-2605D + 0.1% СХ проявила наибольшую эффективность в защите пшеницы от темно-бурой пятнистости и бурой ржавчины, что выразилось в снижении площади поражения листьев в 6 раз и в 10 раз по отношению к контролю.

Многочисленные биохимические реакции, индуцируемые элиситорами, протекают в определенной последовательности. Развитие защитных реакций, несомненно, связано с индукцией транскрипционной активности генов, кодирующих определенные защитные белки. Уровень накопления продуктов и скорость индукции этих защитных генов в растении-хозяине коррелируют со степенью его устойчивости к болезням. Формирование индуцированной устойчивости зависит от скорости активации защитных реакций, поэтому важен интервал времени между применением индуцирующего агента и развитием ответных биохимических реакций у растения. Так, в листьях арабидопсиса, обработанных бактериальным флагеллином flg22, в ответ на заражение *Pseudomonas syringae* уже через 20 мин. резко возростала продукция активных форм кислорода (АФК), достигая максимума через 35–40 мин. (Smith et al., 2014). В растениях перца чили, обработанных штаммом *Bacillus vallismortis* EXTN-1, уже через 12 ч после заражения *Pseudomonas capsici* резко повышалась экспрессия связанных с защитой маркерных генов PR1 (хитиназы), PR4 (пероксидазы) и PR10 (β -1,3-глюканазы), которые участвуют в снижении развития болезни, активируя ISR (Park et al., 2016). В растениях пшеницы, обработанных продуцирующим сурфактин штаммом *B. subtilis* 24Д, инфицирование грибом *Parastagonospora nodorum* способствовало активации транскрипции гена PR-9, кодирующего анионную пероксидазу. Уже через 24 ч уровень фермента был в 3 раза выше по сравнению с контрольными растениями. Существенно возростала экспрессия гена, кодирующего липоксигеназу (LOX), а транскрипционная активность гена PR-6 (ингибитора протеиназ) была более, чем в 200 раз выше по сравнению с контрольными растениями (Черепанова и др., 2019).

Как правило, микроорганизмы активируют у растений защитные механизмы ISR, но некоторые штаммы способны включать и SAR. Обработка растений кукурузы штаммом *B. subtilis* через 24 ч индуцировала активацию защитных генов белков, а именно, PR-1 и PR-4 антимикробных белков, которые обеспечивали полную защиту от *Fusarium moniliforme* благодаря механизмам SAR (Gond et al., 2015). Белковый элиситор (АМЕР412) из *B. subtilis* BU412 индуцировал SAR табака к *P. syringae*: запускал реакцию гиперчувствительности) в листьях табака, стимулировал образование АФК и активировал индукцию защитных ферментов, включая супероксиддисмутазу (SOD), пероксидазу (POD), полифенолоксидазу (PPO) и фенилаланин-аммиак лиазу (PAL) уже через 8 ч. после обработки. Пик активности ферментов наблюдался через 24 ч (Shen et al., 2019). Чаще всего все эти защитные реакции возникали примерно через 24 ч после обработки бактериальными штаммами. Однако некоторым элиситорам требовалось более 2 дней, чтобы индуцировать защитные реакции. Снижение развития пирикулярноза в растениях риса, обработанных штаммами *Bacillus* spp., коррелировало с резким увеличением активности антиоксидантных ферментов, связанных с механизмами защиты: SOD (в 1.7 раза), POD (в 3.5 раза), PPO (в 3 раза), ФАЛ (в 3.9 раз). Активность ферментов достигала максимума на 4-е сутки после инокуляции *Pyricularia oryzae*, что свидетельствовало о запуске ISR к *P. oryzae* (Rais et al., 2017). Индуцируемая эндифитами и их метаболитами устойчивость сохраняется

в растениях долгое время, описываемая в научной литературе термином «прайминг», эффективно функционирует против патогенов наряду с прямым биоцидным действием метаболитов (Lastochkina et al., 2019).

Кроме того, уровень активации индуцированных защитных реакций зависит от концентрации элиситора, что показано на примере растений томата, обработанных бесклеточным фильтратом *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* MBI60024 (Dimopoulou et al., 2019). Косвенно

о концентрации метаболитов с элиситорной активностью в культуральной жидкости биопрепарата можно судить по титру бактериальных клеток. В настоящей работе анализ результатов изучения индуцирующей активности всех испытанных вариантов показал, что их способность повышать устойчивость пшеницы к темно-бурой пятнистости и бурой ржавчине зависит от титра бактериальных клеток и сроков обработки растений пшеницы.

Заключение

Таким образом, из всех испытанных образцов с разной плотностью клеток от 10^7 до 10^9 КОЕ/мл наиболее эффективным был вариант с максимальным титром, который подавлял развитие темно-бурой пятнистости и бурой ржавчины на 20% по отношению к контролю. Образец КЖ с добавлением 0.1% СХ также эффективно снижал развитие болезней, его высокий защитный эффект композиции сохранялся в диапазоне более низких значений концентрации клеток (10^7 – 10^8 КОЕ/мл). Это можно объяснить тем, что к действию метаболитов микроба-антагониста присоединяется действие СХ. Как было сказано выше, эффективность СХ как индуктора в защите пшеницы от комплекса болезней установлена нами в последних работах (Попова и др., 2021; Колесников и др., 2022). Механизм такого действия может быть обусловлен наличием в КЖ олигомеров

хитозана, образующихся при гидролизе СХ хитинолитическими ферментами бактерии в процессе ферментации (San-Lang et al., 2006). Олигомеры хитина и хитозана, как известно, эффективные элиситоры индуцированной устойчивости растений (Yin et al., 2013; Deermala et al., 2014). Ранее опубликованные работы позволяют предположить, что различные метаболиты с биоцидной и элиситорной активностью, продуцируемые бактериальными штаммами, активизируют механизмы естественной устойчивости растений к патогенам совместно с хитозановыми индукторами устойчивости. Оптимальная концентрация бактериальных клеток в новых образцах и время их применения – важные элементы, определяющие их биологическую эффективность.

Библиографический список (References)

- Андреева ЕИ, ред (1990) Методические рекомендации по испытанию химических веществ на фунгицидную активность. Черкассы: НИИТЭХИМ. 67 с.
- Варламов ВП., Немцев СВ., Тихонов ВЕ (2010) Хитин и хитозан: природа, получение и применение. М. 292 с.
- Васюкова НИ, Озерецковская ОЛ (2007) Индуцированная устойчивость растений и салициловая кислота. *Прикладная биохимия и микробиология* 43(4): 405–411
- Васюкова НИ, Озерецковская ОЛ, Чаленко ГИ, Герасимова НГ и др. (2010) Иммуномодулирующая активность производных хитозана с салициловой кислотой и ее фрагментами. *Прикл. биохимия и микробиология* 46(3):379–384
- Кабашникова ЛФ (2020) Прайминг защитных реакций в растениях при патогенезе: приобретенный иммунитет. *Журнал Белорусского государственного университета. Экология* 4:19–29 <https://doi.org/10.46646/2521-683X/2020-4-19-29>
- Карпун НН, Янушевская ЭБ, Михайлова ЕВ (2015) Механизмы формирования неспецифического индуцированного иммунитета у растений при биогенном стрессе (обзор). *Сельскохозяйственная биология* 50(50):540–549. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2015.5.540rus>
- Колесников ЛЕ, Попова ЭВ, Новикова ИИ, Колесникова ЮР и др. (2022) Применение хитозана в защите пшеницы от болезней и повышении урожайности. *Прикладная биохимия и микробиология* 58(3):1–8 <https://doi.org/10.31857/S0555109922030072>
- Куликов СН, Тюрин ЮА, Фассахов РС, Варламов ВП (2009) Антибактериальная и антимикотическая активность хитозана: механизмы действия и роль структуры. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии* 5:91–97
- Луньков АП, Ильина АВ, Варламов ВП (2018) Антиоксидантные, антибактериальные и фунгицидные свойства пленок на основе хитозана (обзор). *Прикладная биохимия и микробиология* 54(5):444–454
- Максимов ИВ, Веселова СВ, Нужная ТВ, Сарварова ЕР и др. (2015) Стимулирующие рост растений бактерии в регуляции устойчивости растений к стрессовым факторам. *Физиология растений* 62(6):763–775 <http://doi.org/10.7868/s0015330315060111>
- Максимов ИВ, Хайруллин РМ (2019) Фитоиммунитет и микробиом растений. *Аграрная наука* 2:40–44 <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2019-326-2-40-44>
- Максимов ИВ, Сингх БП, Черепанова ЕА, Бурханова ГФ и др (2020) Перспективы применения бактерий – продуцентов липопептидов для защиты растений (обзор) *Прикладная биохимия и микробиология* 56(1):19–34 <https://doi.org/10.31857/S0555109920010134>
- Михайлова ЛА, Мироненко НВ, Коваленко НМ (2012) Желтая пятнистость пшеницы. Методические указания по изучению популяций возбудителя желтой пятнистости *Pyrenophora tritici-repentis* и устойчивости сортов. СПб: ВИЗР. 56 с.
- Новикова ИИ, Бойкова ИВ, Павлюшин ВА, Зейрук ВН и др. (2013) Перспективы использования биопрепаратов на основе микробов-антагонистов для защиты картофеля от болезней при хранении. *Вестник защиты растений* 4:12–21
- Новикова ИИ, Попова ЭВ, Краснобаева ИЛ, Коваленко НМ (2021) Биологическое обоснование использования индукторов устойчивости на основе хитозана для повышения эффективности биофунгицидов. *Сельскохозяйственная биология* 56(3):511–522 <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2021.3.511rus>
- Павлюшин ВА, Новикова ИИ, Бойкова ИВ (2020) Микробиологическая защита растений в технологиях фитосанитарной оптимизации агроэкосистем: теория и

- практика. *Сельскохозяйственная биология* 55(3):421–438 <https://doi.org/10.15389/agrobiol.2020.3.421rus>
- Попова ЭВ, Коваленко НМ, Сокорнова СВ, Домнина НС и др. (2017) Влияние салициловой кислоты и ванилина на устойчивость пшеницы к возбудителю темно-бурой пятнистости *Cochliobolus sativus*. *Микология и фитопатология* 51(3):178–182
- Попова ЭВ, Коваленко НМ, Сокорнова СВ, Тютюрев СЛ и др. (2018) Влияние гибридных производных хитозана на устойчивость пшеницы к патогенам с разной стратегией питания. *Прикл. биохимия и микробиология* 54(5):540–545 <https://doi.org/10.1134/S055510991805015X>
- Попова ЭВ, Домнина НС, Сокорнова СВ, Коваленко НМ и др. (2021) Инновационные гибридные иммуномодуляторы растений на основе хитозана и биоактивных антиоксидантов и прооксидантов. *Сельскохозяйственная биология* 56(1):158–170 <https://doi.org/10.15389/agrobiol.2021.1.158rus>
- Сидорова ТМ, Асатурова АМ, Хомяк АИ (2018) Биологически активные метаболиты *Bacillus subtilis* и их роль в контроле фитопатогенных микроорганизмов (обзор). *Сельскохозяйственная биология* 53(1):29–37 <https://doi.org/10.15389/agrobiol.2018.1.29rus>
- Тютюрев СЛ (2014) Природные и синтетические индукторы устойчивости растений к болезням. СПб: ВИЗР. 212 с.
- Черепанова ЕА, Благова ДК, Бурханова ГФ, Сарварова ЕС и др. (2019) Сурфактин *Bacillus subtilis* 26Д в защите пшеницы от фитопатогенного гриба *Stagonospora nodorum* (Berk.) *Экобиотех* 2(3):339–346 <https://doi.org/10.31163/2618-964X-2019-2-3-339-346>
- Шафикова ТН, Омеличкина ЮВ (2015) Молекулярно-генетические аспекты иммунитета растений к фитопатогенным бактериям и грибам. *Физиология растений* 62(5):611–627 <https://doi.org/10.7868/S0015330315050140>
- Шенин ЮД, Новикова ИИ, Кругликова ЛФ, Калько ГВ (1995) Характеристика Алирина Б, основного компонента фунгицидного препарата, продуцируемого штаммом *Bacillus subtilis*-10-ВИЗР. *Антибиотики и химиотерапия* 40(5):3–7
- Abdallah RAB, Stedel C, Garagounis C, Nefzi A, Jabnoun-Khiareddine H et al. (2017) Involment of lipopeptide antibiotics and chitinase genes and induction of host defense in suppression of *Fusarium* wilt by endophytic *Bacillus* spp. in tomato. *Crop Protection* 99:45–58 <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2017.05.008>
- Chen M, Wang J, Liu B, Zhu Y, Xiao R et al. (2020) Biocontrol of tomato bacterial wilt by the new strain *Bacillus velezensis* FJAT-46737 and its lipopeptides. *BMC Microbiol* 20(1):160 <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01851-2>
- Akhtar S, Sultana A, Shupta SA, Chakrabortyand S, Khokon MAR (2020) Evaluation of foliar spraying of bacillus subtilis and achromobacter xylooxidans for management of bacterial leaf blight (blb) of rice under field condition. *Bangladesh J Plant Pathol* 36(1–2):39–48
- Akram W, AnjumT, Ali B (2015) Searching ISR determinant/s from *Bacillus subtilis* IAGS174 against *Fusarium* wilt of tomato. *BioControl* 60(2):271–280 <https://doi.org/10.1007/s10526-014-9636-1>
- Alkooranee JT, Aledan TR, Ali AK, Lu G, Zhang X et al. (2017) Detecting the hormonal pathways in oilseed rape behind induced systemic resistance by *Trichoderma harzianum* TH12 to *Sclerotinia sclerotiorum*. *PLoS ONE* 12(1):e0168850 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0168850>
- Alkooranee JT, Kadhum NN (2019) Induce systemic resistance in cucumber by some bio-elicitors against alternaria leaf blight disease caused by *Alternaria cucumerina* fungus. *Plant Archives* 19(1):747–755
- Azmina N, Malik A, Kumar LS, Nadarajah K (2020) Elicitor and receptor molecules: orchestrators of plant defense and immunity. *Int J Mol Sci* 21(3): 963 <https://doi.org/10.3390/ijms21030963>
- Badawy MEI, Rabea EI (2011) A biopolymer chitosan and its derivatives as promising antimicrobial agents against plant pathogens and their applications in crop protection. *Int J Carbohydr Chem* 2011: 1–29 article ID 460381 <https://doi.org/10.1155/2011/460381>
- Benhamou N (2004) Potential of the mycoparasite, verticillium lecanii, to protect citrus fruit against *Penicillium digitatum*, the causal agent of green mold: a comparison with the effect of chitosan. *Phytopathology* 94(7):693–705. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2004.94.7.693>
- Cawoy H, Debols D, Franzill L, De Pauw E (2015) Lipopeptides as main ingredients for inhibition of fungal phytopathogens by *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*. *Microbial Biotechnol* 8(2):281–295. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12238>
- Chakraborty T, Akhtar N (2021) Biofertilizers: Prospects and challenges for future. In: Ahamed M, Boddula R, Rezakazemi M (eds.) *Biofertilizers Biofertilizers: Study and Impact* Scrivener Publishing LLC 575–590. <https://doi.org/10.1002/9781119724995.ch20>
- Chowdhury SP, Hartmann A, Gao XW, Borriss R (2015) Biocontrol mechanism by root-associated *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 – a review. *Front Microbiol* 6:780 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00780>
- De los Santos-Villalobos S, Parra-Cota FI (2020) Current trends in plant growth-promoting microorganisms research for sustainable food security. *Cur Res Microbial Sci* 2:100016 <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2020.100016>
- De los Santos-Villalobos S, Díaz-Rodríguez AM, Ávila-Mascareño MF, Martínez-Vidales AD, Parra-Cota FI (2021) COLMENA: a culture collection of native microorganisms for harnessing the agro-biotechnological potential in soils and contributing to food security. *Diversity* 13:337 <https://doi.org/10.3390/d13080337>
- Dimopoulou A, Theologidis I, Liebmann B, Kalantidis K, Vassilakos N et al. (2019) *Bacillus amyloliquefaciens* MBI600 differentially induces tomato defense signaling pathways depending on plant part and dose of application. *Sci Rep* 9(1):191–200 <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55645-2>
- Deepmala K, Hemantaranjan A, Bharti S, Bhanu AN (2014) A future perspective in crop protection: chitosan and its oligosaccharides. *Adv Plants Agriculture Res* 1(1):23–30 <https://doi.org/10.15406/apar.2014.01.00006>
- Duan Y, Chen R, Zhang R, Jiang W, Chen X et al. (2021) Isolation, identification, and antibacterial mechanisms of bacillus amyloliquefaciens QSB-6 and its effect on plant roots. *Front Microbiol* 12:746–799 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.746799>
- Fira D, Dimkić I, Berić T, Lozo J, Stanković S (2018) Biological control of plant pathogens by *Bacillus* species. *J Biotechnol* 285:44–55. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2018.07.044>

- Gao X, Gong Y, Huo Y, Han Q, Kang Z, Huang L. (2015) Endophytic *Bacillus subtilis* strain e1r-j is a promising biocontrol agent for wheat powdery mildew. *J Biomed Biotechnol* 6: 1–8. <https://doi.org/10.1155/2015/462645>
- Ghazy N, El-Nahrawy S (2021) Siderophore production by *Bacillus subtilis* MF497446 and *Pseudomonas koreensis* MG209738 and their efficacy in controlling *Cephalosporium maydis* in maize plant. *Arch Microbiol* 203:1195–1209. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-02113-5>
- Gond S, Bergen M, Torres M, White JF (2015) Endophytic *Bacillus* spp. produce antifungal lipopeptides and induce host defence gene expression in maize. *Microbiol Res* 172:79–87. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2014.11.004>
- Hui Li, Jie Zhao, Hao Feng, Lili Huang (2013) Biological control of wheat stripe rust by an endophytic *Bacillus subtilis* strain E1R-j in greenhouse and field trials. *Crop Prot* 43:201–206. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2012.09.008>
- Hyakumachi M, Nishimura M, Arakawa T, Asano S, Yoshida S et al. (2013) *Bacillus thuringiensis* suppresses bacterial wilt disease caused by *Ralstonia solanacearum* with systemic induction of defense-related gene expression in tomato. *Microbes and environments* 28(1):128–134 <https://doi.org/10.1264/jsm2.ME12162>
- Jiao X, Takishita Y, Zhou G, Smith DL (2021) Plant associated rhizobacteria for biocontrol and plant growth enhancement. *Front Plant Sci* 12:1–8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.634796>
- Kriuchkova LO (2017) Biological control of leaf disease of barley with *Bacillus* strain. *Biologija* 63(3):289–295. <https://doi.org/10.6001/biologija.v63i3.3584>
- Kumar S, Diksha, Sindhu SS; Kumar R (2022) Biofertilizers: An ecofriendly technology for nutrient recycling and environmental sustainability. *Curr Res Microbial Sci* 3:1–26. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100094>
- Lastochkina O, Seifikalhor M, Aliniaiefard S, Baymiev A, Pusenkova L et al. (2019) *Bacillus* spp.: efficient biotic strategy to control postharvest diseases of fruits and vegetables. *Plants* 8(4):97 <https://doi.org/10.3390/plants8040097>
- Llorens E, García-Agustín P, Lapeña L (2017) Advances in induced resistance by natural compounds: towards new options for woody crop protection. *Sci Agric* 74(1):90–100. <https://doi.org/10.1590/1678-992X-2016-0012>
- Maksimov IV, Abizgildina PP, Sorokan AV, Burkhanova GF (2014) Regulation of peroxidase activity under the influence of signaling molecules and *Bacillus subtilis* 26d in potato plants infected with *Phytophthora infestans*. *Appl Biochem Microbiol* 50(2):173–178. <https://doi.org/10.7868/S0555109914020135>
- Masmoudi F, Khedher SB, Kamoun A, Zouari N, Tounsi S et al. (2017) Combinatorial effect of mutagenesis and medium component optimization on *Bacillus amyloliquefaciens* antifungal activity and efficacy in eradicating *Botrytis cinerea*. *Microbiol Res* 197:29–38. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2017.01.001>
- Novikova II, Shenin YD (2011) Isolation, identification, and antifungal activity of a Gamair complex formed by *Bacillus subtilis* M-22, a producer of a biopreparation for plant protection from mycoses and bacterioses *Appl Biochem Microbiol* 47(9):817–826. <https://doi.org/10.1134/S0003683811090031>
- Novikova II, Titova YuA, Boykova IV, Zeyruk VN, Krasnobaeva IL et al. (2017) Biological justification for the optimization of preparative forms of biological preparations based on antagonist microbes to control populations of phytopathogenic fungi and bacteria – causative agents of plant diseases. *Plant Protection News* 3:16–23
- Park K, Park Y-S, Ahamed J, Dutta S, Ryu H et al. (2016) Elicitation of induced systemic resistance of chili pepper by iturin A analogs derived from *Bacillus vallismortis* EXTN-1 *Can J Plant Sci* 96(4):564–570. <https://doi.org/10.1139/cjps-2015-0199>
- Pathak E, Sanjyal A, Regmi CR, Paudel S, Shrestha A (2021) Screening of potential plant growth promoting properties of *Bacillus* species isolated from different regions of Nepal. *Nepal J Biotechnol* 9: 79–84. <https://doi.org/10.3126/njb.v9i1.38672>
- Pieterse C, Zamioudis C, Berendsen RL, Weller DM, van Wees S et al. (2014) Induced Systemic Resistance by Beneficial Microbes. *Annu Rev Phytopathol* 52:347–375. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102340>
- Rais A, Jabeen Z, Shair F, Hafeez FY, Hassan MN (2017) *Bacillus* spp., a bio-control agent enhances the activity of antioxidant defense enzymes in rice against *Pyricularia oryzae*. *PLoS ONE* 12(11): e0187412. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187412>
- Reis J, Yi H, Liang GH, Muthukrishnan S, Velazhahan R (2004) Foliar application of *Bacillus subtilis* AUBS1 reduces sheath blight and triggers defense mechanisms in rice. *J Plant Dis Prot* 111(2):115–125
- Reiss A., Jorgensen L.N. (2017) Biological control of yellow rust of wheat (*Puccinia striiformis*) with Serenade®ASO (*Bacillus subtilis* strain QST713). *Crop Prot* 93:1–8. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.11.009>
- San-Lang W, Tzu-Yin L, Yue-Hong Y, Hui-Fen L, Yu-Jen C (2006) Bioconversion of shellfish chitin wastes for the production of *Bacillus subtilis* W-118 chitinase. *Carbohydr Res* 341(15):2507–2515. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2006.06.027>
- Santoyo G, Orozco-Mosqueda MC, Govindappa M (2012) Mechanisms of biocontrol and plant growth-promoting activity in soil bacterial species of *Bacillus* and *Pseudomonas*: a review. *Biocontr Sci Technol* 22:855–872. <https://doi.org/10.1080/09583157.2012.694413>
- Sasirekha B, Srividya S (2016) Siderophore production by *Pseudomonas aeruginosa* FP6, a biocontrol strain for *Rhizoctonia solani* and *Colletotrichum gloeosporioides* causing diseases in Chillies. *Agric Nat Resour* 50:250–256. <https://doi.org/10.1016/j.anres.2016.02.003>
- Shrawat A, Sindhu SS (2019) Potential of biocontrol agents in plants disease control for improving food safety. *Def Life Sci J* 4:220–225. <https://doi.org/10.14429/dlsj.4.14966>
- Sendi Y, Pfeiffer T, Koch E, Mhadhbi H, Mrabet M (2020) Potential of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) root micro-biome in the biocontrol of root rot disease and traits of performance. *J Plant Dis Prot* 127:453–462. <https://doi.org/10.1007/s41348-020-00338-6>
- Shrawat A, Sindhu SS, Glick BR (2022) Hydrogen cyanide production by soil bacteria: Biological control of pests and promotion of plant growth in sustainable agriculture. *Pedosphere* 32:15–38. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(21\)60058-9](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(21)60058-9)

- Singh A, Chauhan PS (2017) Ecological significance of soil-associated plant growth-promoting biofilm-forming microbes for stress management. In: Ahmad I., Husain FM (eds) *Biofilms in Plant and Soil Health* (Chapter 16). John Wiley & Sons Ltd. 291–326. <https://doi.org/10.1002/9781119246329.ch16>
- Shen Y, Li J, Xiang J, Wang J, Yin K et al (2019) Isolation and identification of a novel protein elicitor from a *Bacillus subtilis* strain BU412. *AMB Expr* 9(1):117. <https://doi.org/10.1186/s13568-019-0822-5>
- Smith JM, Heese A (2014) Rapid bioassay to measure early reactive oxygen species production in Arabidopsis leaf tissue in response to living *Pseudomonas syringae*. *Plant Methods* 10(1):6 <https://doi.org/10.1186/1746-4811-10-6>
- Syed AB, Rahman SF, Singh E, Pieterse CM, Schenk PM (2018) Emerging microbial biocontrol strategies for plant pathogens. *Plant Sci* 267:102–111. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2017.11.012>
- Torres MJ, Brandan C, Petroselli G, Erra-Balsells R, Audisio M (2016) Antagonistic effects of *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* and *B. amyloliquefaciens* against *Macrophomina phaseolina*: SEM study of fungal changes and UV-MALDI-TOF MS analysis of their bioactive compounds. *Microbiol Res* 182:31–39. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.09.005>
- Toyota M, Spencer D, Sawai-Toyota S, Jiaqi W, Zhang T (2018) Glutamate triggers long-distance, calcium-based plant defense signaling. *Science* 361:1112–1115. <https://doi.org/10.1126/science.aat7744>
- Vlot AC, Dempsey DA, Klessig DF (2009) Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease. *Annu Rev Phytopathol* 47:177–206. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.050908.135202>
- Vlot A C, Sales J H, Lenk M, Bauer K, Brambilla A et al. (2020) Systemic propagation of immunity in plants. *New Phytologist* 229(3):1234–1250. <https://doi.org/10.1111/nph.16953>
- Wang XQ, Zhao DL, Shen LL, Jing CL et al (2018) Application and mechanisms of *Bacillus subtilis* in biological control of plant disease. In: Meena VS (ed) *Role of rhizospheric microbes in soil*. Springer Singapore. 225–250. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-8402-7-9>
- Wang Y, Liu H, Shen Z, Miao Y, Wang J et al. (2022) Richness and antagonistic effects co-affect plant growth promotion by synthetic microbial consortia. *Appl Soil Ecol* 170(104300):1–5. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.104300>
- Yang L, Quan X, Xue B, Goodwin PH, Lu S et al. (2015) Isolation and identification of *Bacillus subtilis* strain YB-05 and its antifungal substances showing antagonism against *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. *Biol Control* 85:52–58. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2014.12.010>
- Yin H, Li Y, Zhang HY, Wang WX, Lu H et al (2013) Chitosan oligosaccharides – triggered innate immunity contributes to oilseed rape resistance against *Sclerotinia sclerotiorum*. *Int J Plant Sci* 174(4):722–732. <https://doi.org/10.1086/669721>
- Yu C, Fan L, Gao J, Wang M, Wu Q et al. (2015) The platelet activating factor acetyl hydrolase gene derived from *Trichoderma harzianum* induces maize resistance to *Curvularia lunata* through the jasmonic acid signaling pathway. *J Environ Sci Health* 50(10):708–17. <https://doi.org/10.1080/03601234.2015.1048104>
- Zehra A, Raytekar NA, Meena M, Swapnil P (2021) Efficiency of microbial bio-agents as elicitors in plant defense mechanism under biotic stress: A review. *Cur Res Microb Sci* 2:1–14. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100054>
- Zhang JX, Xue AG (2010) Biocontrol of sclerotinia stem rot (*Sclerotinia sclerotiorum*) of soybean using novel *Bacillus subtilis* strain SB24 under control conditions. *Plant Pathol* 59(2):382–391. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2009.02227.x>
- Zhi Y, Wu Q, Xu Y (2017) Production of surfactin from waste distillers' grains by co- culture fermentation of two *Bacillus amyloliquefaciens* strains. *Bioresource Technol* 235:96–103. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.03.090>

Translation of Russian References

- Andreeva EI, ed (1990) [Guidelines for testing chemicals for fungicidal activity]. Cherkassy: NIITEKHIM 67p. (In Russian)
- Cherepanova EA, Blagova DK, Burkhanova GF, Sarvarova ES et al. (2019) [Surfactin *Bacillus subtilis* 26D in wheat protection from the phytopathogenic fungus *Stagonospora nodorum* (Berk.)]. *Ekobiotekh* 2(3):339–346. <https://doi.org/10.31163/2618-964X-2019-2-3-339-346> (In Russian)
- Kabashnikova LF (2020) [Priming of protective reactions in plants during pathogenesis: acquired immunity]. *Journal of the Belarusian State University. Ecology* 4:19–29. <https://doi.org/10.46646/2521-683X/2020-4-19-29> (In Russian)
- Karpun N N, Yanushevskaya EB, Mikhailova EV (2015) [Mechanisms of formation of nonspecific induced immunity in plants under biogenic stress (review)]. *Agricultural biology* 50(50):540–549. <https://doi.org/10.15389/agrobiol.2015.5.540rus> (In Russian)
- Kolesnikov LE, Popova E V, Novikova I, Kolesnikova JUR et al (2022) [The use of chitosan in protecting wheat from diseases and increasing yields]. *Prikl Biokhim Mikrobiol* 58(3):1–8 <https://doi.org/10.31857/S0555109922030072> (In Russian)
- Lunkov AP, Il'ina AV, Varlamov VP (2018) [Antioxidant, antibacterial and fungicidal properties of chitosan-based films (review)]. *Prikl Biokhim Mikrobiol* 54(5):444–454 (In Russian)
- Maksimov IV, Veselova SV, Nuzhny TV, Sarvarova EP et al (2015) [Stimulating plant growth bacteria in the regulation of plant resistance to stress factors]. *Fiziologiya rasteniy* 62(6):763–775 (In Russian)
- Maximov IV, Singh BP, Cherepanova EA, Burkhanova GF et al. (2020) [Prospects for the use of lipopeptide-producing bacteria for plant protection (review)] *Prikl Biokhim Mikrobiol* 56(1):19–34. <https://doi.org/10.31857/S0555109920010134> (In Russian)
- Mikhailova LA, Mironenko NV, Kovalenko NM (2012) [Yellow spot of wheat. Guidelines for the study of populations of the yellow spotted pathogen *Pyrenophora tritici-repentis* and the resistance of varieties]. St. Petersburg: VIZR. 56 p. (In Russian)
- Novikova I, Popova E V, Krasnobaeva IL, Kovalenko NM (2021) [Biological justification of the use of chitosan-based resistance inducers to increase the effectiveness of biofungicides]. *Agricultural Biology* 56(3):511–522. <https://doi.org/10.15389/agrobiol.2021.3.511rus> (In Russian)

- Novikova II, Boykova IV, Pavlyushin VA, Zeyruk VN et al (2013) [Prospects for the use of biological products based on antagonist microbes to protect potatoes from diseases during storage]. *Plant Protection News* 4:12–21 (In Russian)
- Pavlyushin V, Novikova I, Boikova I (2020) [Microbiological plant protection in technologies of phytosanitary optimization of agroecosystems: theory and practice]. *Agricultural Biology* 55(3):421–438. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2020.3.421rus> (In Russian)
- Popova EV, Domnina NS, Sokornova SV, Kovalenko NM et al (2021) [Innovative hybrid plant immunomodulators based on chitosan and bioactive antioxidants and prooxidants]. *Agricultural Biology* 56(1):158–170. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2021.1.158rus> (In Russian)
- Popova EV, Kovalenko NM, Sokornova SV, Domnina NS et al. (2017) [The effect of salicylic acid and vanillin on wheat resistance to the causative agent of dark brown spotting *Cochliobolus sativus*]. *Mikol Fitopatol* 51(3):178–182 (In Russian)
- Popova EV, Kovalenko NM, Sokornova SV, Tyuterev SL et al (2018) [The effect of hybrid chitosan derivatives on wheat resistance to pathogens with different nutrition strategies]. *Prikl Biokhim Mikrobiol* 54(5):540–545. <https://doi.org/10.1134/S055510991805015X> (In Russian)
- Shafikova TN, Omelichkina YuV (2015) [Molecular genetic aspects of plant immunity to phytopathogenic bacteria and fungi]. *Russian Journal of Plant Physiology* 62(5):611–627 <https://doi.org/10.7868/S0015330315050140> (In Russian)
- Shenin YuD, Novikova II, Kruglikova LF, Kalko GV (1995) [Characteristics of Alirin B, the main component of a fungicide produced by the *Bacillus subtilis* strain 10-VIZR]. *Antibiotiki i khimioterapiya* 40(5):3–7 (In Russian)
- Sidorova TM, Asaturova AM, Homyak AI (2018) [Biologically active metabolites of *Bacillus subtilis* and their role in the control of phytopathogenic microorganisms (review)]. *Agricultural Biology* 53(1):29–37. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2018.1.29rus> (In Russian)
- Tyuterev SL (2014) [Natural and synthetic inducers of plant disease resistance]. St. Petersburg: VIZR 212 p. (In Russian)
- Varlamov VP, Nemtsev SV, Tikhonov VE (2010) [Chitin and chitosan: nature, preparation and application]. Moscow. 292 p. (In Russian)
- Vasyukova NI, Ozeretskovskaya OL (2007) [Induced plant resistance and salicylic acid]. *Prikl Biokhim Mikrobiol* 43(4): 405–411 (In Russian)
- Vasyukova NI, Ozeretskovskaya OL, Chalenko GI, Gerasimova NG et al. (2010) [Immunomodulatory activity of chitosan derivatives with salicylic acid and its fragments]. *Prikl Biokhim Mikrobiol* 46(3):379–384 (In Russian)

Plant Protection News, 2022, 105(3), p. 122–134

OECD+WoS: 4.01+AM (Agronomy)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2022-105-3-15320>

Full-text article

THE FACTORS INCREASING THE INDUCING ACTIVITY OF TWO *BACILLUS. SUBTILIS* STRAINS IN THE PROTECTION OF WHEAT AGAINST PATHOGENS OF SPOT BLOTCH *BIPOLARIS SOROKINIANA* AND LEAF RUST *PUCCINIA TRITICINA*

I.I. Novikova, E.V. Popova, N.M. Kovalenko*, I.L. Krasnobaeva

All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Russia

*corresponding author; e-mail: nadyakov@mail.ru

The purpose of this work was to evaluate the contribution of the culture liquid of *Bacillus subtilis* strains VKM B-2604D and VKM B-2605D and its components (cell-free supernatant and bacterial cell suspension) to the formation of induced resistance to spot blotch and leaf rust in wheat plants, as well as to establish the optimal cell concentration and application time which determine the effectiveness of the laboratory samples containing 0.1 % chitosan salicylate (CS). It is assumed that the culture liquid and its supernatant contain biologically active metabolites possessing elicitor activity and responsible for the manifestation of induced wheat resistance to spot blotch and leaf rust. Treatment of wheat leaves with culture liquid and supernatant reduced the *B. sorokiniana* infection level by 1.5–2 times, and *P. tritricina* by 20% and 10%, respectively, as compared to the control. Meanwhile, the suspension of bacterial cells did not suppress the development of the disease symptoms. It has been experimentally shown that all culture liquid samples tested showed the greatest inducing effect at the concentration of 10⁹ CFU/ml. It was found that among the application timing variants (1 and 2 days before and 1 and 2 days after the inoculation), pre-treatment of wheat plants one day before the pathogen inoculation was the most effective, significantly reducing the disease development. As a result, the area of leaf damage by the spot blotch and the leaf rust was decreased 6- and 10-fold, respectively, as compared to the control.

Keywords: microbial control, laboratory sample, Vitaplan, cultural liquid, fungistatic activity, induced resistance, chitosan salicylate

Submitted: 29.04.2022

Accepted: 13.09.2022