

ЭКОЛОГИЧЕСКИ БЕЗОПАСНЫЕ МЕТОДЫ БОРЬБЫ С ЖЕЛТОЙ ПЯТНИСТОСТЬЮ ЛИСТЬЕВ ПШЕНИЦЫ

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт биологической защиты растений»

Реферат. Традиционные методы борьбы с желтой пятнистостью листьев пшеницы негативно воздействуют на окружающую среду. Поэтому необходимы альтернативные способы защиты растений, например, использование экологически безопасных биопрепаратов на основе микроорганизмов. Цель исследований – установление биологической эффективности лабораторных образцов биопрепаратов на основе *B. subtilis* в отношении желтой пятнистости листьев пшеницы на искусственном инфекционном фоне. Работа выполнена на базе ФГБНУ ВНИИБЗР в 2015 г. в условиях климатической камеры по опубликованной методике на озимой пшенице сорта Батяко. Объект исследования – лабораторные образцы биопрепаратов *B. subtilis* BZR 336 g и *B. subtilis* BZR 517. Опыт заложен в двух вариантах – с применением предпосевной обработки семян и без нее для установления роли этого элемента в борьбе с болезнью. Установлено, что наиболее эффективное сдерживание проникновения и развития в растении патогена происходит при комбинировании обработки перед посевом и в период вегетации: биологическая эффективность – 22,4–38,8 % по числу пятен и 22,2–50,8 % по типу реакции. В вариантах без предпосевной обработки эффективность снижена: 21,5–43,8 % по количеству пятен, 3,1–45,1 % по типу реакции. Защитное действие биоагентов и химических стандартов направлено на сдерживание проникновения инфекции в растение, о чем свидетельствовали высокие показатели биологической эффективности по количеству пятен. При использовании предпосевной обработки максимально эффективным был *B. subtilis* BZR 336 g: 50,8 % по типу реакции, 38,4 % по количеству пятен. При обработке только вегетирующих растений *B. subtilis* BZR 517: 43,8 % по количеству пятен, 45,1 % по типу реакции. Защитное действие указанных лабораторных образцов направлено на сдерживание проникшей в растение инфекции. Максимальная эффективность отмечена при использовании химических стандартов.

Ключевые слова: *Pyrenophora tritici-repentis*, *Bacillus subtilis*, желтая пятнистость листьев пшеницы, биоконтроль.

Введение

Желтую пятнистость листьев, вызываемую грибом *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechs. (анаморфа *Drechslera tritici-repentis* (Died.) Shoemaker) относят к одной из наиболее вредоносных болезней злаковых культур. Она способна вызывать потери урожая до 65 %, что наносит серьезный ущерб странам с развитым зерновым хозяйством [1, 2].

Возбудитель болезни вызывает хлоротичные и некротичные пятна на листьях в результате производства хостселективных некротиз- и хлороз-индуцирующих токсинов. По мере прогрессирования патогена пятна увеличиваются в размерах, сливаются, что значительно сокращает фотосинтетическую площадь листа и снижает продуктивность растений по критериям урожайности, выполненности, массы колоса и зерна [2–4].

Желтая пятнистость листьев является широко распространённым заболеванием мягких и твердых сортов пшеницы практически во всех странах мира. Есть сведения о широком распространении этой болезни в Канаде, Финляндии, Марокко, Иране, странах Балтийского региона и Румынии, Беларуси, Казахстане, и в ряде других стран ближнего и дальнего зарубежья [1, 2, 4–11].

В России желтая пятнистость листьев впервые зарегистрирована в 1985 г. в южных регионах и в настоящее время широко распространена в северо-западном направлении и достигла высокого уровня развития на некоторых сортах пшеницы [2, 12, 13]. В Северо-Кавказском регионе – лидере по возделыванию озимой пшеницы, желтая пятнистость листьев отмечена во всех агро-климатических зонах, причем на некоторых сортах пшеницы максимальное поражение достигает 50–60 % [1].

Предпосылкой широкого распространения желтой пятнистости листьев является минимизация почвенных обработок, способствующая сохранению псевдотечий на зимующих растительных остатках, возделывание неустойчивых сортов, создающее благоприятные условия для накопления инфекционного начала, увеличения численности популяций возбудителя и чрезмерное применение химических пестицидов, приводящее к возникновению устойчивых рас патогена, также высокая адаптивность и экологическая пластичность возбудителя болезни [7, 12, 13].

В настоящее время в борьбе с грибными болезнями растений, в частности с желтой пятнистостью листьев, отдается предпочтение химическим средствам защиты. Они обладают высокой эффективностью, но имеют ряд недостатков: способность подавлять развитие нецелевых организмов вследствие неизбирательности действия; загрязнять окружающую среду в результате не регламентированного использования; потенциальное наличие канцерогенного и тератогенного эффектов для теплокровных организмов. Также существует вероятность возникновения толерантных рас патогенов при длительном систематическом использовании, что в свою очередь ведет к нежелательному увеличению нормы применения и снижению рентабельности производства [14, 15].

Активно развивающаяся тенденция экологизации земледелия предусматривает альтернативные способы борьбы с фитопатогенами. Одним из экологически безопасных методов контроля болезней растений грибной этиологии является использование PGPR (*Plant Growth-Promoting Rhizobacteria*) микроорганизмов, способных оказывать положительное влияние на рост и развитие растений. Эта группа микроорганизмов включает в себя представителей различных видов и родов (*Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Candida*, *Trichoderma*, *Streptomyces*, и др.), объединенных способностью индуцировать системную устойчивость растений, стимулировать их рост и повышать фунгистатический потенциал почвы. Растения, в свою очередь, продуцируют питательные для определенных групп микроорганизмов экссудаты, чем создают избирательную среду в ризосфере. При успешной колонизации перспективными микроорганизмами фило- и ризосферы и сохранении их жизнеспособности продолжительный период времени будет обеспечиваться подавление развития фитопатогенных грибов [14, 15].

Наиболее перспективными агентами биоконтроля патогенных грибов считаются бактерии рода *Bacillus*, о чем свидетельствуют созданные на их основе коммерческие биологические препараты для защиты растений: «Фитоспорин-М», Ж (*B. subtilis* 26 Д), «Алирин-Б», Ж (*B. subtilis* В-10 ВИЗР), «Гамаир», СП/ТАБ/КС (*B. subtilis* Ч-13); «Витаплан», СП (*B. subtilis* ВКМ-В-2604D и *B. subtilis* ВКМ-В-2605D); «БисолбиСан», Ж (*B. subtilis* Ч-13); «Бактофит», СП (*B. subtilis* ИПМ 215) [16, 17].

Исследования современных зарубежных и российских ученых в системах *in vitro* и *in planta* демонстрируют перспективность применения биоагентов для борьбы с грибами рода *Pyrenophora* на зерновых культурах. Однако, таких исследований за последние семь лет проведено крайне мало.

Так, Larran S. S. с соавторами удалось выделить из растений пшеницы ряд эндофитных штаммов (*Bacillus* sp., *Cladosporium herbarum*, *Epicoccum nigrum*, *Paecilomyces lilacinus*, *Rhodotorula rubra*, *Trichoderma hamatum* и др.) проявивших

себя в качестве агентов биоконтроля *P. tritici-repentis*. Они в значительной степени сдерживали рост фитопатогена, уменьшали диаметр его колоний, процент прорастания спор *in vitro* и снижали развитие болезни в условиях теплицы. Одним из наиболее перспективных биоагентов признан *Bacillus* sp. [18].

Adam A. с соавторами исследовали эффективность штаммов *Pseudomonas putida* ВТР1, *B. subtilis* Bs2500, Bs2504 и Bs2508 в подавлении развития *Pyrenophora graminea* на нескольких сортах ячменя, различающихся по степени устойчивости к данному патогену. Исследователями отмечено снижение поражаемости растений до 66 % в системе *in planta* [19].

Кремнева О. Ю. с соавторами изучали способность шести перспективных штаммов бактерий рода *Bacillus*, прошедших предварительный отбор методом двойных культур *in vitro* [20], снижать развитие *P. tritici-repentis* на озимой пшенице восприимчивого сорта Батько на искусственном инфекционном фоне в условиях теплицы. Исследователям удалось достигнуть биологической эффективности от 51,5 до 58,3 % в большинстве вариантов опыта [12].

Следует отметить, что в настоящее время микробиологических биопрепаратов для защиты пшеницы от желтой пятнистости листьев в РФ не зарегистрировано. Однако, в научной литературе есть упоминания об использовании нецелевых биопрепаратов для снижения развития грибов рода *Pyrenophora* на зерновых культурах. Так, была отмечена биологическая эффективность «Планриза», Ж (*P. fluorescens* AD-33) на уровне 82 %, «Псевдобактерина-2» (*P. aureofaciens*, штамм BS 1393) на уровне 84 % и «Бактофита», СК (*B. subtilis* ИПМ 215) – 70 % в отношении сетчатой пятнистости ячменя [12]. Поэтому поиск новых микроорганизмов, эффективных в отношении желтой пятнистости листьев пшеницы и перспективных в качестве основы для создания биопрепаратов, остается актуальной задачей.

Цель исследований – установление биологической эффективности лабораторных образцов биопрепаратов на основе штаммов *B. subtilis* в отношении желтой пятнистости листьев пшеницы на искусственном инфекционном фоне заражения *P. tritici-repentis* для разработки методов биологического контроля данного патогена.

Материалы и методы исследований

Исследования проведены в 2015 г. Объекты исследования – созданные на основе перспективных штаммов лабораторные образцы биопрепаратов *Bacillus subtilis* BZR 336 g (патент РФ № 2553518) и *Bacillus subtilis* BZR 517 (патент РФ № 2552146, патент РФ № 2621356) из рабочей коллекции лаборатории создания микробиологических средств защиты растений и коллекции микроорганизмов ФГБНУ ВНИИБЗР [24–26]. Штаммы прошли токсиколого-гигиеническую экспертизу в ФГБУН «Центр токсикологии и гигиенической регламентации биопрепаратов» (г. Серпухов), доказавшую их безопасность для теплокровных животных по показателям вирулентности, диссеминации, токсичности и токсигенности, а также процедуру депонирования под номерами RCAM01729 и RCAM01728 в Ведомственной коллекции полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии» (г. Санкт-Петербург).

В качестве тест-культуры фитопатогенного гриба для создания искусственного инфекционного фона использовали чистую культуру *P. tritici-repentis* (Died.) Drechsler из рабочей коллекции лаборатории иммунитета зерновых культур к грибным болезням ФГБНУ ВНИИБЗР. В работе использовали мягкую озимую пшеницу сорта Батько, обработанную лабораторными образцами биопрепаратов по следующей схеме: 1) обработка только перед посевом, 2) обработка только вегетирующих растений. В работе использованы лабораторные образцы на основе монокультуры и смеси

лабораторных образцов. Нормы применения для предпосевной обработки *B. subtilis* BZR 336 g и *B. subtilis* BZR 517 составили 3 л/т и 2 л/т, расход рабочего раствора – 10 л/т. В составе смеси для обработки семян нормы применения составили 3 + 2 л/т, 2 + 1 л/т и 1 + 1 л/т. Для обработки вегетирующих растений нормы применения лабораторных образцов составили 3 л/га и 2 л/га, расход рабочей жидкости – 300 л/га. В составе смеси для обработки по вегетации нормы применения составили 3 + 2; 2 + 1; и 1 + 1 л/га.

Лабораторные образцы биопрепаратов получены на основе штаммов *B. subtilis* BZR 336 g и *B. subtilis* BZR 517, выращенных на оригинальных оптимизированных питательных средах в инкубаторах-шейкерах New Brunswick Scientific Excella E25 (США) (180 об./мин) при оптимальных, экспериментально подобранных значениях температуры, рН и продолжительности культивирования [21]. Количество колониеобразующих единиц (КОЕ) в каждом лабораторном образце определяли методом последовательных разведений Коха [22].

Биологическую эффективность лабораторных образцов биопрепаратов определяли в условиях камеры непрерывного роста растений Binder KWWF 720 (Германия) на фоне искусственного заражения *P. tritici-repentis*. Для этого использовали две партии семян озимой пшеницы сорта Батько – предварительно обработанные лабораторными образцами биопрепаратов и не подвергавшиеся предпосевной обработке. Семена в количестве 30 штук (объем выборки 90 шт.) высаживали в ламинированные стаканы с песком и проращивали в климатической камере при 25 °С, освещенности 5000 люкс, и влажности 40 % до фазы двух листьев. Затем с листьев аккуратно снимали восковой налет и обрабатывали с помощью пульверизатора водно-конициальной суспензией гриба *P. tritici-repentis*, после чего осуществляли культивацию в течение 16 часов при 100 % влажности, 20 °С без доступа света [12].

Для водно-конициальной суспензии использовали чистую культуру споросодержащего гриба *P. tritici-repentis* возрастом 10 суток на твердой питательной среде. Мицелий гриба счищали и разводили в небольшом количестве воды. Полученную суспензию фильтровали до однородного состава, после чего с помощью камеры Горяева определяли количество конидий в капле известного объема. Согласно опубликованной методике, оптимальная концентрация спор составила $3-5 \times 10^3$ спор/мл, инфекционная нагрузка – 50 мл/м² [23].

После инокуляции растения продолжили культивировать в климатической камере при 25 °С, освещенности 14200 люкс, и влажности 40 % в течение пяти дней, осуществляя полив по мере необходимости. Обработку вегетирующих растений лабораторными образцами биопрепаратов проводили дважды – на третий день после посева семян и спустя три дня после инокуляции растений. В качестве химического стандарта для обработки семян использовали «Раксил», КС (тебуконазол), для обработки вегетирующих растений – «Альто Супер», КС (пропиконазол, ципроконазол) в регламентированных концентрациях. Биологический стандарт не применяли в данном исследовании, так как биопрепаратов против желтой пятнистости листьев пшеницы в РФ не зарегистрировано. В контрольных вариантах семена и растения обработаны дистиллированной водой. Спустя пять дней осуществляли учёт зараженных растений по пятибалльной шкале [23]. Отмечали количество характерных для желтой пятнистости пятен на каждом листе и определяли тип реакции каждого пятна по шкале (таблица 1).

Биологическую эффективность рассчитывали по количеству пятен и по типу реакции с помощью формулы Эббота [23].

Статистическую обработку данных проводили с применением критерия Дункана многофакторного дисперсионного анализа с помощью пакета программ STATISTICA 13.2 (StatSoft Russia).

Таблица 1 – Шкала учета для определения степени поражения желтой пятнистостью листьев пшеницы

| Симптом поражения | Тип реакции, балл |
|--|-------------------|
| Симптомы отсутствуют. | 0 |
| Мелкие (до 0,5 мм) темно-коричневые пятна. Хлорозов нет или они небольшие. | 1 |
| Темно-коричневые пятна до 1 мм. Могут быть хлорозы. | 2 |
| Мелкие пятна (1-2мм) от бледных до темно-коричневых, часто в желтом ореоле. | 3 |
| Большие (3 мм) коричневые пятна, обычно с темно-коричневым центром. В основном окружены значительными хлорозами от 2 до 3 мм. | 4 |
| Большие (3–5 мм) некрозы с темно-коричневым центром, сильное пожелтение окружающих тканей. Пятна соединяются, что приводит к гибели всего листа или его части. | 5 |

Результаты и их обсуждение

Хотя желтая пятнистость листьев пшеницы является аэрогенной инфекцией, в задачу исследований входило определение роли предпосевной обработки семян в борьбе с болезнью. Именно поэтому опыт заложили одновременно в двух вариантах: с использованием предпосевной обработки семян и без нее. При этом для оценки способности биоагента сдерживать проникновение патогена в растение, биологическую эффективность рассчитывали по количеству пятен, а для установления возможности сдерживать развитие инфекции уже проникшей в растительную ткань, биологическую эффективность определяли по типу реакции (таблица 2, 3).

Таблица 2 – Биологическая эффективность лабораторных образцов биопрепаратов на фоне искусственного заражения *P. tritici-repentis* озимой пшеницы сорта Батько с предпосевной обработкой семян и вегетирующих растений (2015 г.)

| Вариант опыта, норма применения, л/т | Количество пятен, шт. | Тип реакции, балл | Биологическая эффективность, % | |
|--|-----------------------|--------------------|--------------------------------|-----------------|
| | | | по количеству пятен | по типу реакции |
| Контроль (обработка семян и растений водой) | 2,37 ^b | 1,85 ^{be} | — | — |
| Химический стандарт («Раксил», КС – предпосевная обработка семян; «Альто Супер», КС – обработка вегетирующих растений) | 0,44 ^c | 0,63 ^{ab} | 81,4 | 65,9 |
| <i>B. subtilis</i> BZR 336 g, 3 | 1,48 ^a | 0,91 ^{cd} | 38,4 | 50,8 |
| <i>B. subtilis</i> BZR 517, 2 | 1,63 ^{ab} | 1,48 ^{ab} | 31,2 | 20,0 |
| <i>B. subtilis</i> BZR 336 g + <i>B. subtilis</i> BZR 517, 3+2 | 1,84 ^{ab} | 1,44 ^{ab} | 22,4 | 22,2 |
| <i>B. subtilis</i> BZR 336 g + <i>B. subtilis</i> BZR 517, 2+1 | 1,45 ^a | 1,22 ^a | 38,8 | 34,1 |
| <i>B. subtilis</i> BZR 336 g + <i>B. subtilis</i> BZR 517, 1+1 | 3,24 ^d | 2,04 ^e | 0 | 0 |

Примечание. Между вариантами, обозначенными одинаковыми буквами, при сравнении в пределах столбцов нет статистически достоверных различий по критерию Дункана при 95 % уровне вероятности, $0,05 > p > 0,05$.

В вариантах с предпосевной обработкой семян лабораторными образцами биопрепаратов биологическая эффективность составила от 22,4 до 38,8 % по числу пятен и от 22,2 до 50,8 % по типу реакции. При этом высокое фунгипротекторное действие продемонстрировал *B. subtilis* BZR 336 g – 50,8 % по типу реакции и 38,4 % по количеству пятен. Защитное действие этого штамма направлено преимущественно на сдерживание уже проникшей в растение инфекции, о чем свидетельствовало повышение биологической эффективности по типу реакции. Среди смесевых вариантов высокую эффективность отметили при соотношении лабораторных образцов с нормами применения 2 + 1 л/т – 38,8 % по количеству пятен и 34,1 % по типу реакции. Максимально эффективным в данном варианте опыта выступил химический стандарт («Раксил», КС/«Альто Супер», КС) – 81,4 % по количеству пятен и 65,9 % по типу реакции (см. таблицу 2).

Установлено, что в вариантах, где предпосевная обработка не использована, биологическая эффективность значительно ниже по двум параметрам: 21,5–43,8 % по количеству пятен и 3,1–45,1 % по типу реакции. При этом наиболее эффективным лабораторным образцом в данном случае выступил *B. subtilis* BZR 517: 43,8 % по количеству пятен и 45,1 % – по типу реакции. Судя по повышению биологической эффективности по типу реакции, его защитное действие также направлено преимущественно на сдерживание инфекции, уже проникшей в растительную ткань. Среди смесевых вариантов высокая эффективность также отмечена при соотношении норм применения 2 + 1 л/га – 38,8 % по количеству пятен и 34,1 % по типу реакции. В вариантах без предпосевной обработки максимальная эффективность отмечена при использовании химического стандарта «Альто Супер», КС – 29,1 % по количеству пятен и 18,4 % по типу реакции (таблица 3).

Таблица 3 – Биологическая эффективность лабораторных образцов биопрепаратов на фоне искусственного заражения *P. tritici-repentis* озимой пшеницы сорта Батько с обработкой только вегетирующих растений

| Вариант опыта, норма применения, л/т | Количество пятен, шт. | Тип реакции, балл | Биологическая эффективность, % | |
|---|-----------------------|--------------------|--------------------------------|-----------------|
| | | | по количеству пятен | по типу реакции |
| Контроль (обработка семян и растений водой) | 5,25 ^b | 2,55 ^{ac} | – | – |
| Химический стандарт («Альто Супер», КС – обработка вегетирующих растений) | 1,40 ^c | 1,03 ^b | 73,3 | 59,6 |
| <i>B. subtilis</i> BZR 336 g, 3 | 3,76 ^a | 2,22 ^a | 28,4 | 12,9 |
| <i>B. subtilis</i> BZR 517, 2 | 2,95 ^a | 1,40 ^b | 43,8 | 45,1 |
| <i>B. subtilis</i> BZR 336 g + <i>B. subtilis</i> BZR 517, 3 + 2 | 4,12 ^{ab} | 2,47 ^a | 21,5 | 3,1 |
| <i>B. subtilis</i> BZR 336 g + <i>B. subtilis</i> BZR 517, 2 + 1 | 3,72 ^a | 2,08 ^a | 29,1 | 18,4 |
| <i>B. subtilis</i> BZR 336 g + <i>B. subtilis</i> BZR 517, 1 + 1 | 7,16 ^d | 3,08 ^c | 0 | 0 |

Примечание. Между вариантами, обозначенными одинаковыми буквами, при сравнении в пределах столбцов нет статистически достоверных различий по критерию Дункана при 95 % уровне вероятности, $0,05 > p > 0,05$.

Анализируя таблицы 1 и 2, можно заключить, что в борьбе с желтой пятнистостью листьев пшеницы предпосевная обработка семян является необходимым элементом, о чем говорит повышение биологической эффективности по критериям количества пятен и типа реакции при обработке семян лабораторными образцами биопрепаратов. Однако, для подтверждения установленной закономерности необходимо проведение аналогичных исследований в условиях поля.

Следует отметить, что независимо от способа обработки растений, защитное действие и биоагентов, и химических стандартов направлено на сдерживание проникновения *P. tritici-repentis* в растение, о чем свидетельствовали более высокие показатели биологической эффективности по количеству пятен, чем по типу реакции в вариантах с применением предпосевной обработки семян и без нее. Исключение составили лабораторные образцы, демонстрировавшие максимальное защитное действие: *B. subtilis* BZR 336 g при использовании обработки перед посевом и по вегетации, *B. subtilis* BZR 517 при обработке только вегетирующих растений.

По данным таблиц 1 и 2 среди вариантов на основе смеси двух штаммов наиболее эффективным выступило соотношение норм применения 2 + 1 л/т (л/га) при использовании предпосевной обработки и без нее.

Соотношение норм применения 3 + 2 л/т (л/га) демонстрировало средний результат, а смесь штаммов с равными нормами применения не показала эффективность в данном опыте. Вероятно, в данном случае может иметь место конкуренция между штаммами в составе общей смеси.

Выводы

В результате исследования биологической эффективности лабораторных образцов *B. subtilis* BZR 336 g и *B. subtilis* BZR 517 на искусственном инфекционном фоне в отношении *P. tritici-repentis* выявлено, что наиболее эффективное сдерживание проникновения и развития в растении патогена происходит при комбинировании обработки семян перед посевом и в период вегетации: биологическая эффективность составляла от 22,4 до 38,8 % по числу пятен и от 22,2 до 50,8 % по типу реакции. В вариантах без предпосевной обработки эффективность снижена: 21,5–43,8 % по количеству пятен и 3,1–45,1 % по типу реакции. При этом максимальная эффективность при использовании предпосевной обработки и без нее отмечена при использовании химических стандартов.

Обнаружено, что защитное действие и биоагентов, и химических стандартов направлено на сдерживание проникновения инфекции в растение, о чем свидетельствовали более высокие показатели биологической эффективности по количеству пятен.

Установлено, что при использовании предпосевной обработки максимально эффективен лабораторный образец *B. subtilis* BZR 336 g: 50,8 % по типу реакции и 38,4 % по количеству пятен. При обработке только вегетирующих растений – *B. subtilis* BZR 517: 43,8 % по количеству пятен и 45,1 % по типу реакции. Причем защитное действие указанных лабораторных образцов, в отличие от других вариантов опыта, направлено преимущественно на сдерживание уже проникшей в растение инфекции.

Наиболее эффективной смесью лабораторных образцов биопрепаратов оказалось соотношение норм применения 2 + 1 л/т (л/га) как в вариантах с применением предпосевной обработки, так и без нее.

*Исследования выполнены согласно Государственного задания № 075-00376-19-00
Министерства науки и высшего образования РФ в рамках НИР по теме № 0686-2019-0013.*

Литература

1. Кремнева О. Ю., Астапчук И. Л., Волкова Г. В. Структура популяции возбудителя желтой пятнистости пшеницы (*Pyrenophora tritici-repentis*) по вирулентности и расовому составу на Юге России в 2014 г. // Наука Кубани. 2016. № 1. С. 37–42.
2. Михайлова Л. А., Мироненко Н. В., Коваленко Н. М. Популяции *Pyrenophora tritici-repentis* на Северном Кавказе и Северо-Западе России: расовый состав и динамика вирулентности // Микология и фитопатология. 2014. № 6. С. 393–400.
3. Betts M. F., Manninga V. A., Cardwella K. B., Pandelovaa I., Ciuffetti L. M. The importance of the N-terminus for activity of Ptr ToxB, a chlorosis-inducing host-selective toxin produced by *Pyrenophora tritici-repentis* // Physiological and molecular plant pathology. 2011. No. 4. P. 138–145. doi.org/10.1016/j.pmpp.2011.03.002.
4. Kokhmetova A., Madenova A., Kampitova G., Urazaliev R., Yessimbekova M., Morgounov A., Purnhauser L. Identification of leaf rust resistance genes in wheat cultivars produced in Kazakhstan // Cereal research communications. 2016. No. 2. P. 240–250. DOI: 10.1556/0806.43.2015.056.
5. Aboukhaddour R., Strelkov S. E., Turkington T. K. Race structure of *Pyrenophora tritici-repentis* (tan spot of wheat) in Alberta, Canada // Canadian journal of plant pathology. 2013. No. 2. Vol. 35. P. 256–268. DOI: 10.1080/07060661.2013.782470.
6. Jalli M., Laitinen P., Latvala S. The emergence of cereal fungal diseases and the incidence of leaf spot diseases in Finland // Agricultural and food science. 2011. No. 1. Vol. 20. P. 62–73. DOI: 10.2137/145960611795163015.
7. Gamba F. M., Bassi F. M., Finckh M. R. Race structure of *Pyrenophora tritici-repentis* in Morocco // Phytopathologia mediterranea. 2017. No. 1. Vol. 56. P. 119–126. DOI: 10.14601/Phytopathol_Mediterr-18830.
8. Momeni H., Javan-Nikkhah M., Naghavi M. R., Aboukhaddour R., Akhavan A., Strelkov S. E., Razavi M. Race identification of *Pyrenophora tritici-repentis* in Iran // Journal of plant pathology. 2014. No. 2. P. 287–294. DOI: 10.4454/JPP.V96I2.036.
9. Abdullah S., Sehgal S. K., Ali S., Kaur N., Liatukas Z., Ittu M. Characterization of *Pyrenophora tritici-repentis* (tan spot of wheat) races in Baltic states and Romania // Plant pathology journal. 2017. No. 2. P. 133–139. DOI: 10.5423/PPJ.OA.10.2016.0214.

10. Подорский М. В., Шашко Ю. К., Шашко М. Н. Желтая пятнистость пшеницы *Pyrenophora tritici-repentis* в Беларуси: идентификация, выделение, культивирование на искусственных питательных средах // Земледелие и селекция в Беларуси. 2016. № 52. С. 119–124.
11. Койшибаев М. Распространение и развитие желтой пятнистости пшеницы в Казахстане // Микология и фитопатология. 2011. № 2. С. 177–186. DOI: 10.1080/07060661.2013.782470.
12. Кремнева О. Ю., Асатунова А. М., Жарникова М. Д., Волкова Г. В. Штаммы бактерий-антагонистов *Pyrenophora tritici-repentis in vitro*, эффективные против желтой пятнистости листьев пшеницы в фазу всходов в вегетационном опыте // Сельскохозяйственная биология. 2015. № 1. Т. 50. С. 99–106. DOI:10.15389/agrobiology.2015.1.99rus.
13. Михайлова Л. А., Коваленко Н. М., Мироненко Н. В., Россеева Л. П. Популяции *Pyrenophora tritici-repentis* на территории России // Микология и фитопатология. 2015. № 4. С. 257–261.
14. Азизбекян Р. Р. Использование спорообразующих бактерий в качестве биологических средств защиты растений // Биотехнология. 2013. № 1. С. 69–77.
15. Maksimov I. V., Maksimova T. I., Sarvarova E. R., Blagova D. K., Popov V. O. Endophytic bacteria as effective agents of new generation biopesticides (review) // Applied biochemistry and microbiology. 2018. No. 2. Vol. 54. P. 134–148. DOI: 10.1134/S0003683818020072.
16. Штерншис М. В. Тенденции развития биотехнологии микробных средств защиты растений в России // Вестник Томского государственного университета. Серия «Биология». 2012. № 2 (18). С. 92–100.
17. Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.agroxxi.ru/goshandbook> (дата обращения 21.01.2019).
18. Larran S. S., Simon M. R., Moreno M. V., Santamarina Siuranae M. P., Perello A. Endophytes from wheat as biocontrol agents against tan spot disease // Biological control. 2016. Vol. 92. P. 17–23. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2015.09.002.
19. Adam A., Arabi M. I. E., Idris I., Al-Shehadah E. Effect of several rhizobacteria strains on barley resistance against *Pyrenophora graminea* under field conditions // Hellenic plant protection journal. 2017. No. 10. P. 35–45. DOI: 10.1515/hppj-2017-0004.
20. Кремнева О. Ю., Асатунова А. М., Волкова Г. В. Отбор штаммов бактерий, проявляющих антагонизм в отношении возбудителя желтой пятнистости листьев пшеницы // Биотехнология. 2013. № 5. С. 54–59.
21. Асатунова А. М., Хомяк А. И., Томашевич Н. С., Жарникова М. Д., Жевнова Н. А., Дубяга В. М., Козицын А. Е. Физиологические признаки бактерий рода *Bacillus* – перспективных продуцентов биофунгицидов // Наука Кубани. 2014. № 1. Р. 12–15.
22. Нетрусов Ф. И., Егорова М. А., Захарчук Л. М. Практикум по микробиологии. М.: Издательский центр «Академия», 2005. 608 с.
23. Волкова Г. В., Кремнева О. Ю., Андропова А. Е., Надыкта В. Д. Желтая пятнистость листьев пшеницы (возбудитель *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechsler). Монография. М.: АМА-ИПРЕСС, 2012. 282 с.
24. Патент РФ № 2553518. Штамм бактерий *Bacillus subtilis* для получения биопрепарата против фитопатогенных грибов / Асатунова А. М., Дубяга В. М.; заявитель и патентообладатель – Государственное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт биологической защиты растений Российской академии сельскохозяйственных наук». 20.05.2015.
25. Патент РФ № 2552146. Штамм бактерий *Bacillus subtilis* BZR 517 для получения биопрепарата против фитопатогенных грибов / Асатунова А. М., Дубяга В. М.; заявитель и патентообладатель – Государственное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт биологической защиты растений Российской академии сельскохозяйственных наук». 29.04.2015.
26. Патент РФ № 2621356. Биофунгицид для защиты сельскохозяйственных культур от болезней и повышения урожайности / Асатунова А. М., Томашевич Н. С., Жевнова Н. А., Хомяк А. И., Дубяга В. М., Павлова М. Д., Козицын А. Е., Сидорова Т. М.; заявитель и патентообладатель – Государственное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт биологической защиты растений Российской академии сельскохозяйственных наук». 02.06.2017.

References

1. Kremneva O. Yu., Astepchuk I. L., Volkova G. V. Population structure of the agent of tan spot of wheat (*Pyrenophora tritici-repentis*): virulence and race composition in the south of Russia in 2014 // Science of Kuban. 2016. No. 1. P. 37–42.
2. Mikhailova L. A., Mironenko N. V., Kovalenko N. M. Populations of *Pyrenophora tritici-repentis* in the North Caucasus and North-West Russia: the racial composition and dynamics of virulence // Mycology and Phytopathology. 2014. No. 6. P. 393–400.
3. Betts M. F., Manning V. A., Cardwell K. B., Pandelova I., Ciuffetti L. M. The importance of the N-terminus for activity of Ptr ToxB, a chlorosis-inducing host-selective toxin produced by *Pyrenophora tritici-repentis* // Physiological and molecular plant pathology. 2011. No. 4. P. 138–145. DOI: 10.1016/J.PMPP.2011.03.002.

4. Kokhmetova A., Madenova A., Kampitova G., Urazaliev R., Yessimbekova M., Morgounov A., Purnhauser L. Identification of leaf rust resistance genes in wheat cultivars produced in Kazakhstan // Cereal research communications. 2016. No. 2. P. 240–250. DOI: 10.1556/0806.43.2015.056.
5. Aboukhaddour R., Strelkov S. E., Turkington T. K. Race structure of *Pyrenophora tritici-repentis* (tan spot of wheat) in Alberta, Canada // Canadian journal of plant pathology. 2013. No. 2. Vol. 35. P. 256–268. DOI: 10.1080/07060661.2013.782470.
6. Jalli M., Laitinen P., Latvala S. The emergence of cereal fungal diseases and the incidence of leaf spot diseases in Finland // Agricultural and food science. 2011. No. 1. Vol. 20. P. 62–73. DOI: 10.2137/145960611795163015.
7. Gamba F. M., Bassi F. M., Finckh M. R. Race structure of *Pyrenophora tritici-repentis* in Morocco // Phytopathologia mediterranea. 2017. No. 1. Vol. 56. P. 119–126. DOI: 10.14601/Phytopathol_Mediterr-18830.
8. Momeni H., Javan-Nikkhah M., Naghavi M. R., Aboukhaddour R., Akhavan A., Strelkov S. E., Razavi M. Race identification of *Pyrenophora tritici-repentis* in Iran // Journal of plant pathology. 2014. No. 2. P. 287–294. DOI: 10.4454/JPP.V96I2.036.
9. Abdullah S., Sehgal S. K., Ali S., Kaur N., Liatukas Z., Ittu M. Characterization of *Pyrenophora tritici-repentis* (tan spot of wheat) races in Baltic states and Romania // Plant pathology journal. 2017. No. 2. P. 133–139. DOI: 10.5423/PPJ.OA.10.2016.0214.
10. Podorsky M. V., Shashko Yu. K., Shashko M. N. *Pyrenophora tritici-repentis* of wheat in Belarus: identification, isolation and cultivation in artificial nutrient media // Agriculture and Breeding in Belarus. 2016. No. 52. P. 119–124.
11. Koyshibaev M. Wheat tan spot spread and development in Kazakhstan // Mycology and Phytopathology. 2011. No. 2. P. 177–186. DOI: 10.1080 / 07060661.2013.782470.
12. Kremneva O. Yu., Asaturova A. M., Zhamnikova M. D., Volkova G. V. Bacterial strains antagonistic to *Pyrenophora tritici-repentis* in vitro demonstrate different efficacy on wheat seedling in green house // Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]. 2015. No. 1. Vol. 50. P. 99–106. DOI: 10.15389/agrobiology.2015.1.99rus.
13. Mikhailova L. A., Kovalenko N. M., Mironenko N. V., Rosseeva L. P. Populations of *Pyrenophora tritici-repentis* on the territory of Russia // Mycology and phytopathology. 2015. No. 4. P. 257–261.
14. Azizbekyan R. R. Application of sporiferous bacteria as agents for plant biological protection // Biotekhnologiya (Biotechnology). 2013. No. 1. P. 69–77.
15. Maksimov I. V., Maksimova T. I., Sarvarova E. R., Blagova D. K., Popov V. O. Endophytic bacteria as effective agents of new generation biopesticides (review) // Applied biochemistry and microbiology. 2018. No. 2. Vol. 54. P. 134–148. DOI: org/10.1134/S0003683818020072.
16. Shternshis M. V. Trends of microbial pesticides biotechnology developed for plant protection in Russia // Tomsk State University Journal of Biology. 2012. Vol. 2. No. 2 (18). P. 92–100.
17. State catalog of pesticides and agrochemicals permitted for use in the Russian Federation. [Electronic resource]. Access point: <http://www.agroxxi.ru/goshandbook> (reference's date 21.01.2019).
18. Larran S. S., Simon M. R., Moreno M. V., Santamarina Siurana M. P., Perello A. Endophytes from wheat as biocontrol agents against tan spot disease // Biological control. 2016. Vol. 92. P. 17–23. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2015.09.002.
19. Adam A., Arabi M. I. E., Idris I., Al-Shehadah E. Effect of several rhizobacteria strains on barley resistance against *Pyrenophora graminea* under field conditions // Hellenic plant protection journal. 2017. No. 10. P. 35–45. DOI: 10.1515/hppj-2017-0004.
20. Kremneva O. Yu., Asaturova A. M., Volkova G. V. Selection of strains that are antagonistic to wheat leaf tan spot disease pathogen // Biotekhnologiya (Biotechnology). 2013. No. 5. P. 54–59.
21. Asaturova A. M., Khomyak A. I., Tomashevich N. S., Zhamnikova M. D., Zhevnova N. A., Dubyaga V. M., Kozitsyn A. E. Physiological signs of perspective bacteria of the genus *Bacillus* – producers of biofungicides // Science of Kuban. 2014. No. 1. P. 12–15.
22. Netrusov F. I., Egorova M. A., Zakharchuk L. M. Practical work on microbiology, Moscow: Publishing center “Akademiya”, 2005. 608 p.
23. Volkova G. V., Kremneva O. Yu., Andronova A. E., Nadykta V. D. Yellow spot of wheat leaves (pathogen *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechsler). Monograph. Moscow: AMA-PRESS, 2012. 282 p.
24. Patent No. 2553518. The strain of bacteria *Bacillus subtilis* to obtain a biological product against phytopathogenic fungi / Asaturova A. M., Dubyaga V. M.; applicant and patentee “All-Russian Research Institute of Biological Plant Protection of the Russian Academy of Agricultural Sciences”. 20.05.2015.
25. Patent No. 2552146. The strain of bacteria *Bacillus subtilis* BZR 517 to obtain a biological product against phytopathogenic fungi / Asaturova A. M., Dubyaga V. M.; applicant and patentee “All-Russian Research Institute of Biological Plant Protection of the Russian Academy of Agricultural Sciences”. 29.04.2015.
26. Patent No. 2621356. Biofungicide to protect crops from disease and increase yields / Asaturova A. M., Tomashevich N. S., Zhevnova N. A., Khomyak A. I., Dubyaga V. M., Pavlova M. D., Kozitsyn A. E., Sidorova T. M.; applicant and patentee “All-Russian Research Institute of Biological Plant Protection of the Russian Academy of Agricultural Sciences”. 02.06.2017.

UDC 632:633.1

Asaturova A. M., Zhevnova N. A., Kremneva O. Yu.

ENVIRONMENTALLY FRIENDLY METHODS AGAINST YELLOW SPOT OF WHEAT LEAVES

Summary. *Traditional methods against the yellow spot of wheat leaves have some negative impact on the environment. Therefore, there is a necessity in alternative methods of plant protection, for example, the use of environmentally friendly biologics based on microorganisms. The aim of the work was to determine the biological efficacy of laboratory samples of biological preparations based on *B. subtilis* in relation to the yellow spot of wheat leaves on an artificial infectious background. The work was carried out on the basis of the FSBSI “All-Russian Research Institute of Plant Protection” in 2015 under the conditions of the climate chamber according to the published methodology on winter wheat of the variety ‘Batko’. The objects of the study were laboratory samples of biological products *B. subtilis* BZR 336 g and *B. subtilis* BZR 517. The experiment was laid in two variations – with the use of pre-sowing seed treatment and without it; it allowed us to establish the role of this element in the control of the disease. The most effective inhibition of the penetration and development of a pathogen in a plant was observed when combining seed treatment before sowing and during the growing season: biological effectiveness – 22.4–38.8 % by the number of spots and 22.2–50.8 % by the type of reaction. In variants without pre-sowing treatment, the efficiency was reduced: 21.5–43.8 % by the number of spots, 3.1–45.1 % by the type of reaction. The protective effect of biological agents and chemical standards was aimed at controlling the penetration of infection into the plant; high biological effectiveness in the number of spots indicated this. When processing only vegetative plants, *B. subtilis* BZR 517 was effective: 43.8 % by the number of spots, 45.1 % by the type of reaction. The protective effect of these laboratory samples was aimed at deterring infection penetrated into the plant. Maximum efficiency was noted when using chemical standards.*

Keywords: *Pyrenophora tritici-repentis, Bacillus subtilis, yellow leaf spot of wheat, biocontrol.*

Асатурова Анжела Михайловна, кандидат биологических наук, заведующая лабораторией создания микробиологических средств защиты растений и коллекции микроорганизмов, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт биологической защиты растений»; 350039, Россия, г. Краснодар, ул. Вавилова, 14; e-mail: biocontrol-vniibzr@yandex.ru.

Жевнова Наталья Андреевна, научный сотрудник лаборатории создания микробиологических средств защиты растений и коллекции микроорганизмов ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт биологической защиты растений»; 350039, Россия, г. Краснодар, ул. Вавилова, 14; e-mail: tiamat-7@mail.ru.

Кремнева Оксана Юрьевна, кандидат биологических наук, исполняющая обязанности заведующей лаборатории фитосанитарного мониторинга, приборного и технического обеспечения ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт биологической защиты растений»; 350039, Россия, г. Краснодар, ул. Вавилова, 14; e-mail: kremenoks@mail.ru.

Asaturova Anzhela Mikhailovna, Cand. Sc. (Biol.), head of the laboratory for the development of microbiological plant protection products and collection of microorganisms, FSBSI “All-Russian Research Institute of Plant Protection”; 14, Vavilova str., Krasnodar, 350039, Russia; e-mail: biocontrol-vniibzr@yandex.ru.

Zhevnova Natalia Andreevna, researcher of the laboratory for the development of microbiological plant protection products and collection of microorganisms, FSBSI “All-Russian Research Institute of Plant Protection”; 14, Vavilova str., Krasnodar, 350039, Russia; e-mail: tiamat-7@mail.ru.

Kremneva Oksana Yuryevna, Cand. Sc. (Biol.), acting head of the laboratory for phytosanitary monitoring, instrumentation and technical support, FSBSI “All-Russian Research Institute of Plant Protection”; 14, Vavilova str., Krasnodar, 350039, Russia; e-mail: kremenoks@mail.ru.

Дата поступления в редакцию – 15.01.2019.

Дата принятия к печати – 31.01.2019.