

УРОЖАЙНОСТЬ И ПОРАЖАЕМОСТЬ КАРТОФЕЛЯ
РИЗОКТОНИОЗОМ И ФИТОФТОРОЗОМ ПОД ВЛИЯНИЕМ
ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ *Bacillus thuringiensis* W65
И *Bacillus amyloliquefaciens* P20*

В.К. ЧЕБОТАРЬ¹✉, А.Н. ЗАПЛАТКИН¹, С.В. БАЛАКИНА², Н.М. ГАДЖИЕВ²,
В.А. ЛЕБЕДЕВА², А.В. ХЮТТИ³, Е.П. ЧИЖЕВСКАЯ¹, П.С. ФИЛИППОВА⁴,
О.В. КЕЛЕЙНИКОВА¹, М.Е. БАГАНОВА¹, В.Н. ПИЩИК¹

Для борьбы с фитопфторозом и ризоктониозом картофеля (*Solanum tuberosum* L.) используют химические фунгициды. Однако в связи с многократными обработками фунгицидами резистентность фитопатогенов к ним повышается. Альтернативой химическим фунгицидам служат биофунгициды. Использование штаммов эндофитных бактерий рода *Bacillus* перспективно для разработки на их основе новых биофунгицидов. Эндофиты, находясь внутри растений, имеют преимущество во взаимодействиях с ними по сравнению с бактериями, занимающими другие экологические ниши. В настоящей работе впервые установлена эффективность экспериментальных образцов препаратов на основе штаммов эндофитных бактерий рода *Bacillus* при выращивании сортов картофеля, различающихся по устойчивости к фитопфторозу, в условиях северо-запада Российской Федерации. Целью работы было изучение влияния экспериментальных образцов препаратов на основе штаммов эндофитных бактерий *Bacillus thuringiensis* W65 и *Bacillus amyloliquefaciens* P20 на урожайность картофеля и поражаемость растений ризоктониозом и фитопфторозом. Эндофитные штаммы *Bacillus* были выделены из внутренних тканей картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта Сударыня, устойчивого к раку картофеля. При росте на агаризованных средах они обладали антагонистической активностью к фитопатогенам — возбудителям фитопфтороза *Phytophthora infestans* (Mont. de Bary) и ризоктониоза *Rhizoctonia solani* (Kühn.). Полевые мелкоделяночные опыты были проведены в 2020–2021 годах на опытном поле ФГБНУ Ленинградский НИИ сельского хозяйства «Белогорка» (д. Белогорка, Ленинградская обл., Гатчинский р-н). Схема опыта включала следующие варианты: чистый контроль (без обработок); химический контроль — обработки химическими фунгицидами Селест Топ, КС («Сингента», Россия), Манкоцеб, СП («Агрорус и Ко», Россия), Рипид Дуэт, СП («Агрорус и Ко», Россия), Инфинито, КС («Bayer Crop Science», Германия), Зуммер, КС («ООО «КРОПЭКС», Россия) и десикантом Голден Ринг («Агро Эксперт Групп», Россия); биологический контроль — БисолбиСан, Ж («БИСОЛБИ ИНТЕР», Россия), биофунгицид на основе штамма ризосферных бактерий *Bacillus subtilis* Ч-13; экспериментальные образцы препарата на основе штаммов *B. thuringiensis* W65 и *B. amyloliquefaciens* P20. Выращивали сорта картофеля с различной устойчивостью к фитопфторозу — Чароит (устойчивый) и Гусар (восприимчивый). Оценивали динамику роста и развития растений, урожайность и поражаемость ризоктониозом и фитопфторозом. Статистическую обработку полученных результатов (расчеты средних и их стандартных ошибок, дисперсионный анализ ANOVA, тест Дункана) проводили с использованием программы Statistica 10 («StatSoft, Inc.», США). При инокуляции экспериментальными образцами препаратов на основе штаммов *B. amyloliquefaciens* P20 и *B. thuringiensis* W65 продолжительность цветения растений картофеля увеличилась на 8–13 сут по сравнению с контролем. Урожайность клубней также увеличилась на 7,9–14,6 % ($p < 0,05$). Наибольшая прибавка урожайности была зарегистрирована у сорта Гусар в 2020 году. При инокуляции экспериментальными образцами препаратов на основе *B. amyloliquefaciens* P20 и *B. thuringiensis* W65 изменилась структура урожая, увеличился выход фракции крупных клубней на 22,5–30,6 % ($p < 0,05$) у картофеля сорта Чароит. Применение экспериментальных образцов препаратов на основе *B. amyloliquefaciens* P20 и *B. thuringiensis* W65 не оказало достоверного влияния на развитие ризоктониоза в мелкоделяночных опытах. Однако была отмечена эффективность препарата на основе *B. amyloliquefaciens* P20 (42,8 %) в снижении развития фитопфтороза на сорте картофеля Чароит. Препарат эндофитных бактерий на основе штамма *B. amyloliquefaciens* P20 может быть рекомендован для дальнейших испытаний в производственных полевых опытах при выращивании картофеля в интегрированной системе защиты совместно с химическими фунгицидами и индукторами системной устойчивости растений.

Ключевые слова: эндофитные бактерии, *Bacillus thuringiensis* W65, *B. amyloliquefaciens* P20, биофунгициды, урожай клубней, картофель, ризоктониоз, фитопфтороз.

* Работа выполнена при финансовой поддержке проекта «Развитие селекции и семеноводства картофеля в Российской Федерации» Федеральной научно-технической программы развития сельского хозяйства на 2017–2025 годы.

Фитофтороз и ризоктониоз — наиболее распространенные и агрессивные микозы среди заболеваний картофеля (*Solanum tuberosum* L.), которые могут приводить к потере 30-50 % урожая, что препятствует реализации потенциальной продуктивности культуры (1). Возбудитель фитофтороза оомицет *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary при бесполом размножении распространяется за счет образования спорангиев, которые прорастают и образуют подвижные зооспоры при низких температурах воздуха от +4 до +15 °С, а затем инцистируются и проникают ростовой трубкой в ткани растения. При повышенных температурах (20-25 °С) зооспоры не образуются. Половой процесс возможен только при наличии в популяции двух типов спаривания. В результате спаривания появляются ооспоры, которые после перезимовки прорастают ростовыми трубками. На конце ростовых трубок образуются спорангии (2). Преимущественно источником инфекции служат больные клубни и зараженные растительные остатки (3). Во время инфицирования патоген синтезирует белковые молекулы-эффекторы (апопластические и цитоплазматические), которые воздействуют на структуру и функции клетки растения (4-7). EPIC1 — один из наиболее хорошо охарактеризованных апопластических эффекторов, который нацелен на связанные с защитой протеазы хозяина (7-9). Цитоплазматические эффекторы оомицетов включают класс RXLR, содержащий консервативный пептидный мотив Arg-любая аминокислота-Leu-Arg (RXLR), который необходим для доставки этих белков в растительные клетки (10). Генетическая устойчивость растений к *P. infestans* регулируется посредством распознавания специфических эффекторов RXLR белками устойчивости NB-LRR хозяина внутри растительных клеток (10).

За последние десятилетия отмечается усиление агрессивности возбудителя фитофтороза *P. infestans* (11, 12). Оно связано с половым процессом размножения и спариванием, при котором происходит рекомбинация генов вирулентности и образование высокоагрессивных рас патогена (13, 14). Агрессивность *P. infestans* может быть связана с преобладанием агрессивной клональной линии 13_A2 в популяции (12).

Гембиотрофный гриб *Rhizoctonia solani* Kühn — телеоморфа, или половая стадия, *Thanatephorus cucumeris* (A.V. Frank) Donk — служит возбудителем ризоктониоза картофеля. Гриб поражает клубни, стебли, столоны и корни взрослых растений. Поражение визуально проявляется образованием бурых пятен и изъязвлений на ростках, столонах и корнях картофеля. На клубнях образуются черные склероции. Телеоморфа проявляется в виде грязно-белого войлочного налета на нижней части стеблей при высокой влажности и оптимальной температуре 15-21 °С. Склероции могут оставаться в состоянии покоя в течение многих лет в почве и отмерших растительных остатках (15, 16). Эффекторы, описанные для *R. solani*, индуцируют некроз у различных растений (17, 18). Известен также эффектор RsRplA, который служит активным ингибитором протеазы и подавляет индукцию реакции сверхчувствительности растений (19).

В настоящее время химический метод защиты картофеля от микозов наиболее эффективен (20, 21). Резистентность фитопатогенов к фунгицидам возрастает в связи с многократными обработками (22-24). На развитие устойчивости патогенов к фунгицидам влияют также размножение патогена, степень защиты фунгицидом, механизм действия на патоген, динамика популяции патогена (25). После широкого внедрения в практику системных препаратов с избирательным механизмом действия возросла частота обнаружения устойчивых рас патогенов, поражающих различные

сельскохозяйственные культуры, в том числе картофель (26-29). Устойчивость к высокоэффективному системному фунгициду мефеноксаму (R-энантиомеру металаксилла) у *P. infestans* наблюдалась после воздействия на ранее чувствительные изоляты сублетальных доз (5 мг/мл) фунгицида (27). У устойчивых к мефеноксаму изолятов *P. infestans* был отмечен медленный рост по сравнению с чувствительными изолятами (30).

В образовании устойчивости *P. infestans* к мефеноксаму/металаксилу задействованы ABC-транспортёры и ферменты-детоксикаторы (цитохром P450) (31, 32). В плазмалемме *P. infestans* происходят изменения, которые препятствуют попаданию яда в клетки (33). Так, при использовании металаксилла в минимальных концентрациях (0,1 и 1 мкг/мл) ингибирование роста *P. infestans* из прилукской популяции в Беларуси превышало 50,0 %. При этом повышение концентрации до 10 мкг/мл увеличивало чувствительность патогена до 75,2 %, а при использовании высокой концентрации (1000 мкг/мл) рост мицелия был полностью подавлен (34).

В качестве альтернативы химическим фунгицидам предлагается широкое внедрение новых биологических фунгицидов (23, 35). При комбинированном использовании химических фунгицидов и биофунгицидов уменьшается резистентность патогенов и стимулируется иммунитет растений (23, 36). Также для защиты от микозов в сельскохозяйственной практике необходимо внедрять новые сорта картофеля с устойчивостью к патогенам (14, 37).

Наиболее эффективны в подавлении развития микозов бактерии из родов *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Lysobacter*, *Enterobacter* и *Paenibacillus* (38). Была изучена антагонистическая активность бактерий рода *Bacillus* против микозов различных сельскохозяйственных культур (39-42). Бациллы способны продуцировать метаболиты, обладающие фунгицидной активностью (43-45). Так, комбинация фенгицина В и сурфактина, продуцируемых *B. pumilus*, была более эффективна при защите картофеля от фитофтороза, чем любой из этих метаболитов, применяемых раздельно (46).

Рекомбинантные эндофитные *B. subtilis* 26DCryChS с геном *BtcryIIa*, кодирующим CryIIa, обладали комплексным фунгицидным и инсектицидным действием (47, 48).

В литературе обсуждается перспективность применения для защиты растений эндофитных бактерий вида *B. thuringiensis*, обладающих комплексным действием (49-51). Штаммы *B. thuringiensis*, продуцирующие хитиназу, способны эффективно ингибировать фитопатогенные грибы *Fusarium oxysporum*, *F. graminearum*, *Pyricularia grisea* и *Physalospora piricola* (49-51). Хитиназы также могут быть использованы для повышения инсектицидной активности *B. thuringiensis* (52).

Эндофитные бактерии — перспективный объект в области биозащиты, поскольку находятся внутри растения-хозяина и непосредственно взаимодействуют с ним (53-55). Эндофиты способны снижать численность фитопатогенов за счет конкуренции за экологическую нишу и синтеза биологически активных веществ (БАВ) (56). В вегетационных и полевых экспериментах изучали действие бактерий эндофитов на развитие фитофтороза (57-59) и ризоктониоза картофеля (60, 61). Показано, что эффективность применения этих бактерий различалась в полевых условиях, а эффективность синтетических химических фунгицидов была выше (59).

Антагонистическую активность четырех штаммов *B. subtilis* — МТСС-2422 (Т-3), KU936344 (Т-4), KU936345 (Т-5) и KU936341 (Т-6) против фитофтороза исследовали в полевых опытах при выращивании карто-

феля сорта Кафри Джоти. В качестве положительного контроля использовали фунгицид манкоцеб М 45 (CURZATE®) (59). Обработка бактериями значительно снижала заболеваемость фитофторозом по сравнению с контролем, однако их эффективность была значительно ниже, чем у химического фунгицида: интенсивность развития заболевания составляла 65 % при применении манкоцеба и более 74 % при использовании бактерий (59). Снижение заболеваемости картофеля ризиктониозом при применении культурального фильтрата *B. subtilis* HussainT-AMU в вегетационных опытах составляло 71 %, в полевых условиях — 50 %, что свидетельствует о высокой биоконтрольной активности этого штамма против *R. solani* (60). Обработка клубней картофеля фитоспорином (экспериментальным препаратом на основе бактерий *Bacillus subtilis* 26; «БашИнком», Россия) в Камчатском крае не привела к эффективному снижению заболевания ризиктониозом: степень развития заболевания перед уборкой урожая снизилась на 7,5, распространенность болезни — на 8,6 %, урожайность увеличилась на 4,7 т/га (61). Однако при совместной обработке клубней фунгицидом ТМТД (АО Фирма «Август», Россия) в дозе 1,7 л/т и опрыскивании споробактерином степень развития и распространенность болезни снизилась соответственно на 11,6 и 48,5 % (61).

Обработка растений картофеля флуопимомидом в минимальной дозе 85 г/га в сочетании с *B. velezensis* SDTB038 значительно снизила поражаемость фитофторозом и повысила урожайность. Результат обработки (средняя эффективность за 2 года — 69 %) был сопоставим с действием максимальной дозы фунгицида (170 г/га) (средняя эффективность за 2 года — 68,6 %). Использование штамма *B. velezensis* SDTB038 позволяет снизить концентрацию фунгицида в полевых условиях (57). Изучение новых штаммов бактерий эндофитов, которые можно применять для защиты картофеля в полевых условиях, актуально для современного сельского хозяйства.

В настоящей работе мы впервые установили эффективность применения экспериментальных образцов препаратов на основе штаммов эндофитных бактерий *B. thuringiensis* W65 и *B. amyloliquefaciens* P20 в условиях северо-запада Российской Федерации при выращивании сортов картофеля, различных по устойчивости к фитофторозу.

Целью работы была оценка влияния экспериментальных образцов препаратов на основе штаммов эндофитных бактерий *Bacillus thuringiensis* W65 и *B. amyloliquefaciens* P20 на урожайность картофеля и поражаемость растений ризиктониозом и фитофторозом.

Методика. Эндофитные штаммы *Bacillus* были выделены из внутренних тканей картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта Сударыня, устойчивого к раку картофеля. Бактерии идентифицировали на основании нуклеотидных последовательностей гена 16S rRNA как *B. thuringiensis* (штамм W65) и *B. amyloliquefaciens* (штамм P20). Нуклеотидные последовательности были депонированы в базу данных GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) под номерами соответственно OP537151 и OP537150. Штаммы *B. thuringiensis* W65 и *B. amyloliquefaciens* P20 были также депонированы в Сетевой биоресурсной коллекции в области генетических технологий для сельского хозяйства ФГБНУ ВНИИСХМ.

Для выделения эндофитов использовали следующую методику. Клубни картофеля промывали водопроводной водой, стерилизовали 5 мин в 70 % этаноле и 10 мин в 15 % H₂O₂. После стерилизации их промывали в стерильной воде пять раз последовательно в течение 2 мин. Последний смыв (40 микролитров) поверхностно высевали на картофельно-декстроз-

ный агар (PDA, «Difco», США), инкубировали 2 сут при 28 °С и при отсутствии роста бактерий использовали стерильные клубни для выделения эндофитов. В 1 л PDA содержалось 4 г сублимированного картофельного отвара, полученного из 200 г картофеля, 20 г декстрозы, 20 г агара, pH 5,6. В стерильных условиях клубни разрезали скальпелем, вырезали внутренние ткани и помещали их в ступку с пестиком, добавляли 5 мл дистиллированной воды и растирали до гомогенности. Затем гомогенную ткань клубней использовали для серии последовательных разведений (до 10^{-5}), из которых делали высев на чашки Петри с агаризованной средой PDA в 3-кратной повторности. Чашки Петри помещали в термостат на 5 сут при 28 °С, после чего изолированные колонии бактерий высевали в пробирки с PDA.

Экспериментальные образцы препаратов эндофитных бактерий на основе штаммов *B. thuringiensis* W65 и *B. amyloliquefaciens* P20 с численностью 500 млн КОЕ (колониеобразующих единиц) в 1 мл были произведены с использованием универсального биореактора RALF («Bioengineering», Швейцария). В качестве эталона использовали биофунгицид БисолбиСан, Ж (жидкость) (ООО «Бисолби-Интер», Россия), зарегистрированный в РФ для борьбы с ризоктониозом, фитофторозом и альтернариозом картофеля (Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации, 2022). Биофунгицид БисолбиСан, Ж производится на основе штамма ризосферных бактерий *B. subtilis* Ч-13 (титр клеток 500 млн КОЕ/мл)

Для культивирования бактерий использовали питательную среду следующего состава (в г/дм³ дистиллированной воды): меласса — 25, кукурузный экстракт — 12,5, MgSO₄ · 7H₂O — 0,2, CaCl₂ — 1,0, MnSO₄ — 0,01.

Численность бактерий в экспериментальных образцах определяли методом предельных разведений (62) с последующим выращиванием на агаризованной среде ГМФ следующего состава: ГМФ-основа — 15,0 г, хлорид натрия — 9,0 г, микробиологический агар — 13,5 (НИЦФ, Россия). Фунгицидную активность штаммов изучали методом колодцев на картофельно-декстрозном агаре PDA (63). Суспензии конидий изучаемых штаммов фитопатогенных грибов (5 мл с концентрацией 1×10^6 конидий/мл) добавляли к 250 мл теплого (45 °С) картофельно-декстрозного агара. Среду перемешивали и разливали в чашки Петри. После застывания в каждой чашке пробочным сверлом были сделаны колодцы диаметром 8 мм и глубиной на всю толщину агара (4 шт. на одну чашку). Тестируемые бактериальные штаммы выращивали стационарно на картофельно-декстрозном бульоне PDB («Difco», США) в течение 5 сут при 28 °С. Затем 100 мкл бактериальной суспензии добавляли в приготовленные колодцы в трехкратной повторности. Антифунгальную активность тестируемых штаммов оценивали по зоне ингибирования роста фитопатогенных грибов вокруг колодцев через 3-5 сут инкубирования инокулированных чашек Петри при 28 °С.

Для изучения ростстимулирующей активности стерильные семена кресс-салата (*Lepidium sativum* L., 1753) сорта Дукат замачивали в полученных суспензиях клеток бактерий с титром 5×10^5 КОЕ/мл в течение 30 мин, затем 30 семян выкладывали в стерильные чашки Петри на поверхность влажной фильтровальной бумаги. В контрольном варианте семена замачивали в стерильном физиологическом растворе. Проростки выращивали 5 сут при 28 °С. Повторность опытов 3-кратная.

В полевых мелкоделяночных опытах выращивали районированные к условиям Северо-Запада новые сорта картофеля столового назначения Чароит и Гусар, различающиеся устойчивостью к фитофторозу.

Чароит (оригинаторы Северо-Западное НПО по селекции и растениеводству Белогорка, ООО Селекционная Фирма «Лига», Филиал ФБГУ Россельхозцентр по Новгородской области) — ранний скороспелый сорт, среднеустойчивый к фитофторозу, парше обыкновенной и ризоктониозу. Урожайность на семенные цели — 20-30 т/га, на товарные цели — 40-60 т/га. Период от полных всходов до урожая — 50-60 сут.

Гусар (оригинатор ООО Селекционная Фирма «Лига») — среднеспелый сорт, умеренно восприимчивый к фитофторозу, среднеустойчивый к парше обыкновенной. Урожайность на семенные цели — 25-30 т/га, на товарные цели — 40-60 т/га. Vegetационный период от полных всходов до уборки — 75-80 сут.

Мелкоделяночные опыты проводили на поле ФГБНУ Ленинградского НИИ сельского хозяйства «Белогорка» (д. Белогорка, Ленинградская обл., Гатчинский р-н). Почва — дерново-подзолистая легкосуглинистая среднеокультуренная со следующими агрохимическими показателями пахотного слоя: содержание подвижного фосфора P_2O_5 — 20,2 мг/100 г, обменного K_2O — 7,7 мг/100 г почвы, органического вещества — 2,6 %, $pH_{сол.}$ 5,1. Гранулометрический состав почвы опытного участка был оптимален для возделывания картофеля. Предшественник — озимая рожь, севооборот полевой.

Минеральные удобрения в виде азофоски (NPK 16:16:16) вносили перед нарезкой гребней из расчета 500 кг/га (по 80 кг/га д.в.). Посадку картофеля проводили 8 мая 2020 и 2021 года. Уход за посадками состоял из двух междурядных обработок — довсходового (12 июня 2020 года и 10 июня 2021 года) и послеvсходового окучивания (28 июня 2020 года и 25 июня 2021 года). До уборки была проведена химическая десикация препаратом Голден Ринг («Агро Эксперт Групп», Россия) в норме 2,0 л/га. Опрыскивание вегетирующих растений выполняли с помощью аккумуляторного ранцевого опрыскивателя Solo («SOLO Kleinmotoren GmbH», Германия), расход рабочей жидкости — 500 л/га.

Варианты размещали методом рандомизации с 3-кратной повторностью. Площадь учетной делянки на всех сортах составляла 11,2 м², ширина — 2,8 м (4 гребня), длина — 3 м. Урожай собирали 15 сентября в 2020 году и 10 сентября в 2021 году. Развитие заболеваний определяли в 2021 году. При оценке заболеваемости ризоктониозом учет проводили по стеблям и столонам на 24 кустах в каждом варианте опыта, при оценке распространения фитофтороза — по 45 кустам в каждом варианте опыта. Степень развития ризоктониоза и фитофтороза определяли согласно методическим указаниям по регистрационным испытаниям фунгицидов в сельском хозяйстве (64).

Развитие фитофтороза оценивали по 8-балльной шкале со следующими градациями: 0 — признаков поражения нет; 1 — поражено менее 2,5 % поверхности листьев; 2 — поражено 2,5-5 % листьев; 3 — 6-10 % листьев; 4 — 11-15 % листьев; 5 — почти каждый лист поражен, 16-25 % засыхание листьев; 6 — 26-50 % засыхание листьев, начало поражения стеблей; 7 — 51-75 % засыхание листьев, прогрессирует поражение стеблей; 8 — растение погибло.

Развитие ризоктониоза на столонах оценивали по 3-балльной шкале: 0 — признаков поражения нет; 1 — поражено до $\frac{1}{3}$ столонов; 2 — поражено $\frac{1}{3}$ - $\frac{2}{3}$ столонов; 3 — поражено свыше $\frac{2}{3}$ столонов. На ростках и стеблях для оценки развития ризоктониоза применяли 4-балльную шкалу: 0 — признаков поражения нет; 1 — пятна (язвы) на ростках или стеблях единичные,

поверхностные, распространены не более чем на $\frac{1}{4}$ длины ростка и подземной части стебля; 2 — язвы охватывают всю окружность, до половины ростка и подземной части стебля; 3 — язвы глубокие, охватывают всю окружность и более половины ростка и подземной части стебля, стебли частично завяли, листья скрутились и пожелтели; 4 — полное загнивание ростка, нижней части стебля и корней, гибель растения.

Биологическую эффективность рассчитывали по формуле:

$$\text{БЭ} = (K - b) / K \times 100 \%,$$

где БЭ — биологическая эффективность препарата, K — интенсивность развития болезни в контроле (балл), b — интенсивность развития болезни в варианте опыта (балл).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программы Statistica 10 («StatSoft, Inc.», США). Вычисляли средние арифметические значения (M) и стандартные ошибки средних ($\pm \text{SEM}$), а также наименьшую существенную разность — величину, указывающую границу случайных отклонений в эксперименте при уровне значимости 95 %. Для оценки статистической значимости различий между средними вариантами опытов использовали тест Дункана.

Результаты. Перед проведением полевых мелкоделяночных опытов мы оценили ростстимулирующую и фунгицидную активность экспериментальных образцов штаммов эндофитных бактерий *B. thuringiensis* W65 и *B. amyloliquefaciens* P20. Как показали результаты лабораторных опытов, штаммы обладали как ростстимулирующей (увеличение длины корней салата относительно контроля соответственно на 12,3 и 18,9 %) ($p < 0,05$), так и фунгицидной активностью (табл. 1, рис. 1).

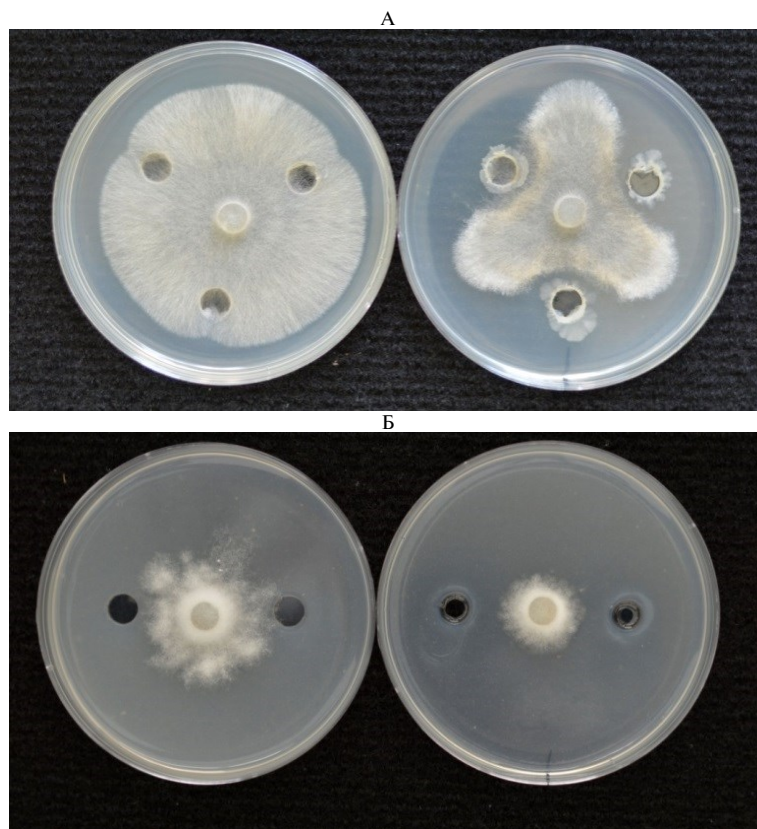


Рис. 1. Фунгицидная активность штамма *B. amyloliquefaciens* P20 по отношению к микромицетам

Rhizoctonia solani Kühn (A) и *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary (Б): слева — контроль (стерильная вода), справа — бактериальная суспензия *B. amyloliquefaciens* P20.

1. Ростстимулирующая и фунгицидная активность экспериментальных образцов штаммов эндофитных бактерий рода *Bacillus*, выделенных из внутренних тканей картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта Сударыня ($M \pm SEM$)

Вариант	Увеличение длины корней, % относительно контроля (n = 100)	Диаметр зон ингибирования роста гриба, мм (n = 3)			
		<i>Phytophthora infestans</i> (Mont.) de Bary	<i>Rhizoctonia solani</i> Kühn	<i>Fusarium solani</i> (Mart.) Sacc.	<i>Fusarium coeruleum</i> (Lib.) ex Sacc.
<i>B. amyloliquefaciens</i> P20	18,9±1,3	17,5±1,0	25,1±1,9	19,9±1,5	21,5±1,7
<i>B. thuringiensis</i> W65	12,3±0,9	13,5±0,3	18,7±0,5	8,7±0,7	13,1±1,1

Примечание. При оценке ростстимулирующей активности использовали растения кресс салата (*Lepidium sativum* L., 1753) сорта Дукат.

Таким образом, образцы эндофитных бактерий *B. thuringiensis* W65 и *B. amyloliquefaciens* P20 были отобраны для проведения полевых мелкоделяночных опытов.

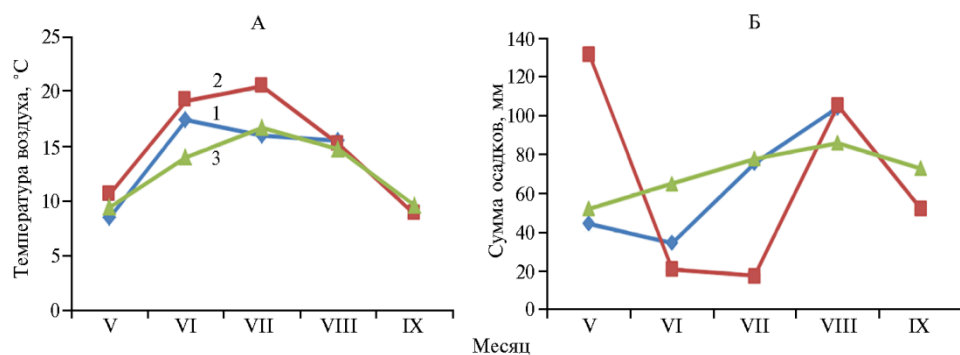


Рис. 2. Средняя температура воздуха (А) и сумма осадков (Б) по месяцам в годы наблюдений: 1 — 2020 год, 2 — 2021 год, 3 — средние многолетние данные за 1990-2020 годы (по данным Объединенной гидрометеорологической станции ОГМС «Белогорка», д. Белогорка, Ленинградская обл., Гатчинский р-н).

2. Схема применения химических и микробиологических средств защиты растений в полевом мелкоделяночном опыте на сортах картофеля (*Solanum tuberosum* L.) Чароит и Гусар (опытное поле ФГБНУ Ленинградского НИИ сельского хозяйства «Белогорка», д. Белогорка, Ленинградская обл., Гатчинский р-н, 2020-2021 годы)

Вариант	Препараты	Норма расхода	Дата обработки
Чистый контроль	Обработка клубней и опрыскивание водой		
Химический контроль	Селест Топ, КС («Сингента», Россия)	0,4 л/га	28 мая
	Зуммер, КС (ООО «КРОПЭКС», Россия)	0,3 л/га	05 июля
	Инфинито, КС («Bayer Crop Science», Германия)	1,2 л/га	13 июля
	Рapid Дуэт, СП («Агрорус и Ко», Россия)	2,0 кг/га	22 июля
	Инфинито, КС («Bayer Crop Science», Германия)	1,4 л/га	02 августа
	Манкоцеб, СП («Агрорус и Ко», Россия)	1,2 кг/га	10 августа
	Голден Ринг, ВР («Агро Эксперт Групп», Россия) + Зуммер, КС (ООО «КРОПЭКС», Россия)	2,0 + 0,3 л/га	19 августа
Биологический эталон	БисолбиСан, Ж (ООО «Бисолби-Интер», Россия)	4,0 л/га	28 мая
		10 л/га	01 июля, 05 июля, 13 июля, 22 июля, 02 августа, 10 августа
	Голден Ринг, ВР («Агро Эксперт Групп», Россия) + Зуммер, КС (ООО «КРОПЭКС», Россия)	2,0 + 0,3 л/га	19 августа
<i>B. thuringiensis</i> W65	Экспериментальный образец препарата	—	—
<i>Bacillus</i> sp. X20	Экспериментальный образец препарата	—	—

Примечание. Прочерки означают, что схема применения аналогична таковой для биологического эталона.

Основные метеорологические показатели вегетационного периода

2020 и 2021 годов, по данным Объединенной гидрометеорологической станции «Белогорка», представлены на рисунке 2.

Схема полевых мелкоделяночных опытов на двух сортах картофеля представлена в таблице 2.

Сезон 2021 года характеризовался сильной почвенной засухой, из-за которой всходы были очень неравномерными, с выпадами и участками, отстающими в росте. В период с начала июня до конца I декады июля осадков на опытных участках поля не наблюдалось. В этих условиях сорт Гусар показал устойчивость к засухе, урожайность в контроле была на 27 % выше по сравнению с 2020 годом (табл. 3). В то же время урожайность картофеля сорта Чароит снизилась на 4,7 %. В 2021 году из-за засушливых условий в период цветения картофеля наблюдалось скудное цветение обоих сортов с массовым опадением бутонов у сорта Гусар. Осадки августа 2021 года привели к росту надземной массы растений и усилению ветвления у обоих сортов картофеля. Отмеченная в 2020 году тенденция увеличения продолжительности цветения при применении микробиологических препаратов сохранилась в 2021 году.

Анализ результатов 2-летних полевых мелкоделяночных опытов показал, что при инокуляции экспериментальными образцами препаратов не наблюдалось достоверного увеличения высоты растений (см. табл. 3). Эти данные согласуются с результатами других исследований (65).

3. Биометрические параметры растений картофеля (*Solanum tuberosum* L.) двух сортов, выращенных в условиях мелкоделяночных полевых опытов с применением химических фунгицидов и экспериментальных образцов препаратов эндофитных бактерий рода *Bacillus*, выделенных из внутренних тканей картофеля сорта Сударыня ($n = 45$, $M \pm SEM$; опытное поле ФГБНУ Ленинградского НИИ сельского хозяйства «Белогорка», д. Белогорка, Ленинградская обл., Гатчинский р-н, 2020-2021 годы)

Вариант	Высота растений, см		Средняя масса клубня, г		Число клубней с одного куста, шт.		Урожайность, г/куст	
	2020	2021	2020	2021	2020	2021	2020	2021
Ч а р о и т (устойчивый сорт)								
Чистый контроль	51,2±4,8 ^a	50,1±4,6 ^a	79,8±5,4 ^{ab}	70,0±4,7 ^b	8,1±0,4 ^b	8,8±0,4 ^b	647±28 ^b	617±32 ^c
Химический контроль	54,3±4,6 ^a	52,4±4,8 ^a	78,6±5,2 ^b	83,7±6,2 ^a	9,0±0,5 ^a	8,8±0,4 ^b	708±36 ^{ab}	732±51 ^a
БисолбиСан, Ж	56,1±7,0 ^a	53,6±4,4 ^a	85,5±5,8 ^a	79,5±5,4 ^a	9,2±0,7 ^a	9,2±0,4 ^{ab}	787±54 ^a	727±48 ^a
<i>B. amyloliquefaciens</i> P20	58,4±6,6 ^a	53,7±4,6 ^a	79,1±5,0 ^a	75,6±5,0 ^{ab}	8,6±0,4 ^{ab}	9,0±0,3 ^{ab}	625±30 ^c	681±34 ^b
<i>B. thuringiensis</i> W65	55,2±5,2 ^a	51,1±4,0 ^a	85,5±5,4 ^a	70,3±4,0 ^b	7,9±0,3 ^b	9,8±0,6 ^a	736±50 ^a	686±36 ^b
НСР ₀₅	7,3	4,8	3,9	4,3	0,8	0,6	32,3	40,6
Г у с а р (восприимчивый сорт)								
Чистый контроль	52,3±4,2 ^a	44,5±4,0 ^b	42,3±3,4 ^a	45,4±3,8 ^{ab}	12,0±0,7 ^b	14,2±0,9 ^b	508±31 ^b	645±32 ^b
Химический контроль	53,3±4,0 ^a	50,9±4,6 ^a	40,6±3,6 ^a	44,5±3,6 ^b	12,2±0,7 ^b	15,5±0,8 ^a	496±28 ^b	689±30 ^{ab}
БисолбиСан, Ж	56,3±6,8 ^a	49,9±4,4 ^a	40,3±4,2 ^a	49,6±4,0 ^a	13,0±0,8 ^a	14,3±1,0 ^b	524±32 ^b	709±34 ^a
<i>B. amyloliquefaciens</i> P20	56,0±6,2 ^a	48,2±4,2 ^a	40,0±2,8 ^a	45,0±3,8 ^{ab}	14,1±0,9 ^a	16,1±1,1 ^a	564±30 ^{ab}	702±40 ^a
<i>B. thuringiensis</i> W65	55,4±4,6 ^a	47,1±4,0 ^a	39,5±3,0 ^b	43,2±2,8 ^b	14,7±0,9 ^a	15,6±0,6 ^b	581±25 ^a	695±36 ^a
НСР ₀₅	6,4	4,2	2,4	2,8	0,6	0,4	25,4	34,2

^{a, b, c} Разные буквы означают, что средние величины показателя для вариантов в столбце статистически значимо различаются по тесту Дункана при $p < 0,05$.

В среднем при применении препарата на основе *B. amyloliquefaciens* P20 урожайность картофеля за вегетационный сезон 2020 года понизилась на 3 % по сравнению с контрольным вариантом, а в 2021 году повысилась на 10,3 % у устойчивого к фитофторозу сорта Чароит. Урожайность восприимчивого сорта Гусар повысилась при применении препарата на основе *B. amyloliquefaciens* P20 на 11 и 8,8 % соответственно в 2020 и в 2021 годах. При использовании препарата на основе *B. thuringiensis* W65 урожайность картофеля обоих изучаемых сортов достоверно ($p < 0,05$) повышалась от 7,7 до 14,4 %. Наибольшее повышение урожайности при применении препарата на основе *B. thuringiensis* W65 отмечалось в 2020 году и составляло 13,7 % у сорта Чароит и 14,4 % у сорта Гусар.

Рост урожайности картофеля сорта Чароит при обработке микробиологическими препаратами происходил в основном за счет повышения средней массы клубня, у сорта Гусар — благодаря увеличению числа клубней на одном кусте.

Обработки химическими фунгицидами не оказали статистически значимого влияния на изменение средней массы клубня у обоих изучаемых сортов, за исключением сорта Чароит в 2021 году. Полученные нами результаты согласуются с данными других исследователей. Известно, что эндофитные штаммы могут стимулировать рост растений, продуцируя фитогормоны, увеличивая доступность элементов питания, повышая стрессоустойчивость растений (53, 66). Бактерии рода *Bacillus*, продуцируя различные метаболиты, проявляют фитопротекторные свойства в засушливых условиях (67). Так, эффективность штамма *B. velezensis* AFB2-2 против фитотрофа картофеля в условиях закрытого грунта составляла 85,7 % за счет биосинтеза бацилломицина D, итурина и сурфактина (58). Другой штамм, *B. velezensis* SDTB038, обеспечивал эффективный контроль фитотрофа картофеля в теплицах и на полях и способствовал росту растений картофеля (57).

При применении экспериментальных образцов препаратов на основе *B. amyloliquefaciens* P20 и *B. thuringiensis* W65 в наших опытах выход фракции клубней размером более 55 мм увеличился у картофеля сорта Чароит на 22,5-30,6 % ($p < 0,05$) (табл. 4). Такое же влияние на структуру урожая клубней этого сорта оказало применение биофунгицида БисолбиСан. Однако на сорте Гусар подобных изменений не отмечали (табл. 4).

4. Фракционный состав клубней картофеля (*Solanum tuberosum* L.) двух сортов, выращенных в условиях мелкоделяночных полевых опытов с применением химических фунгицидов и экспериментальных образцов препаратов эндофитных бактерий рода *Bacillus*, выделенных из внутренних тканей картофеля сорта Сударья (n = 30, M±SEM; опытное поле ФГБНУ Ленинградского НИИ сельского хозяйства «Белогорка», д. Белогорка, Ленинградская обл., Гатчинский р-н, 2020-2021 годы)

Вариант	Выход клубней по фракциям, %							
	< 35 мм		35-45 мм		46-55 мм		> 55 мм	
	2020	2021	2020	2021	2020	2021	2020	2021
Ч а р о и т (устойчивый сорт)								
Чистый контроль	22,2±1,1 ^b	20,5±0,8 ^b	37,0±1,4 ^a	38,6±1,4 ^{ab}	34,6±1,6 ^b	38,6±1,2 ^a	6,2±0,4 ^c	2,3±0,1 ^c
Химический контроль	21,6±0,8 ^{ab}	14,8±0,4 ^d	35,5±1,2 ^{ab}	39,8±1,3 ^a	36,7±1,8 ^a	37,5±1,6 ^{ab}	6,7±0,3 ^c	8,0±0,3 ^b
БисолбиСан, Ж	19,4±0,6 ^c	17,4±0,4 ^c	32,6±0,8 ^c	34,8±1,8 ^b	38,0±2,7 ^a	39,1±1,6 ^a	10,0±0,6 ^a	8,7±0,2 ^a
<i>B. amyloliquefaciens</i> P20	24,1±1,0 ^a	23,5±0,9 ^a	32,9±0,6 ^c	34,7±0,8 ^b	35,4±1,4 ^{ab}	36,7±1,8 ^b	7,6±0,5 ^b	5,1±0,1 ^b
<i>B. thuringiensis</i> W65	19,8±0,4 ^c	20,0±0,4 ^b	34,9±0,5 ^b	41,1±1,6 ^a	37,2±2,0 ^a	33,3±1,4 ^c	8,1±0,6 ^b	5,6±0,1 ^b
НСР ₀₅	1,2	0,9	1,1	1,4	1,9	1,8	0,8	0,3
Г у с а р (восприимчивый сорт)								
Чистый контроль	41,6±2,7 ^b	29,6±0,8 ^b	43,3±2,2 ^a	45,8±2,7 ^{ab}	15,0±0,6 ^a	22,6±1,2 ^b	0,08±0,00 ^d	0
Химический контроль	46,4±2,8 ^a	36,8±1,8 ^a	38,5±1,4 ^{ab}	47,2±3,1 ^a	15,0±0,8 ^a	15,5±0,6 ^c	0,13±0,01 ^c	0
БисолбиСан, Ж	44,5±2,4 ^{ab}	27,3±1,1 ^c	38,5±1,6 ^{ab}	46,8±3,0 ^{ab}	15,0±0,4 ^a	25,2±1,4 ^a	0,13±0,01 ^c	0,7±0,0
<i>B. amyloliquefaciens</i> P20	47,3±2,4 ^a	38,5±2,0 ^a	39,8±1,4 ^b	44,8±2,4 ^b	11,1±0,4 ^c	16,7±0,8 ^c	1,80±0,12 ^a	0
<i>B. thuringiensis</i> W65	46,7±3,0 ^a	34,8±0,9 ^b	38,1±1,5 ^b	50,3±3,2 ^a	13,6±0,7 ^b	14,9±0,4 ^d	1,60±0,10 ^b	0
НСР ₀₅	2,7	1,3	1,5	3,1	0,7	1,3	0,02	0

a, b, c, d Разные буквы означают, что средние величины показателя для вариантов в столбце статистически значимо различаются по тесту Дункана при $p < 0,05$.

Максимальная урожайность (т/га) картофеля сорта Чароит была получена в 2020 году в варианте с применением биологического эталона БисолбиСан (табл. 5). В 2020 году при использовании экспериментальных образцов препаратов на основе *B. amyloliquefaciens* P20 и *B. thuringiensis* W65 были получены достоверные различия ($p < 0,05$) в урожае картофеля сорта Гусар по сравнению с химическим контролем, однако в 2021 году эти различия не выявили. Следует отметить, что прибавка урожайности в вариан-

тах с экспериментальными образцами была сопоставима или выше, чем прибавка, полученная в случае химических фунгицидов (см. табл. 5).

5. Урожайность картофеля (*Solanum tuberosum* L.) двух сортов, выращенных в условиях мелкоделяночных полевых опытов с применением химических фунгицидов и экспериментальных образцов препаратов эндофитных бактерий рода *Bacillus*, выделенных из внутренних тканей картофеля сорта Сударыня ($n = 45$, $M \pm SEM$; опытное поле ФГБНУ Ленинградского НИИ сельского хозяйства «Белогорка», д. Белогорка, Ленинградская обл., Гатчинский р-н, 2020–2021 годы)

Вариант	2020 год				2021 год			
	урожай- ность, т/га	прибавка, %		урожай- ность, т/га	прибавка, %			
		к кон- тролю	к химическому контролю		к кон- тролю	к химическому контролю		
Ч а р о и т (устойчивый сорт)								
Чистый контроль	39,3±1,1 ^b	—	—	35,2±1,7 ^c	—	—	—	—
Химический контроль	43,0±4,1 ^b	9,4	—	41,7±1,6 ^a	18,4	—	—	—
БисолбиСан, Ж	47,8±2,0 ^a	21,6	11,2	41,4±1,4 ^a	17,6	—	—	—
<i>B. amyloliquefaciens</i> P20	38,0±1,0 ^{bc}	—	—	38,8±1,5 ^{bc}	10,2	—	—	—
<i>B. thuringiensis</i> W65	44,7±2,2 ^{ab}	13,7	4,0	39,1±1,2 ^b	11,1	—	—	—
НСР ₀₅	1,9			1,8				
Г у с а р (восприимчивый сорт)								
Чистый контроль	30,8±1,5 ^b	—	—	36,7±0,3 ^b	—	—	—	—
Химический контроль	30,2±3,0 ^b	—	—	39,2±1,2 ^{ab}	6,8	—	—	—
БисолбиСан, Ж	31,9±1,5 ^{ab}	3,5	5,6	40,4±1,7 ^a	10,1	3,1	3,1	3,1
<i>B. amyloliquefaciens</i> P20	34,3±2,1 ^a	11,4	13,6	40,0±1,4 ^a	9,0	2,1	2,1	2,1
<i>B. thuringiensis</i> W65	35,3±1,5 ^a	14,6	16,9	39,6±1,5 ^a	7,9	1,0	1,0	1,0
НСР ₀₅	1,5			1,7				

Примечание. Прочерки означают отсутствие статистически достоверной прибавки по отношению к контролю.

a, b, c Разные буквы означают, что средние величины показателя для вариантов в столбце статистически значимо различаются по тесту Дункана при $p < 0,05$.

6. Распространенность (P) и развитие (R) ризоктониоза и фитофтороза (по шкале Всероссийского НИИ защиты растений) в фазу бутонизации картофеля (*Solanum tuberosum* L.) двух сортов, выращенных в условиях мелкоделяночных полевых опытов с применением химических фунгицидов и экспериментальных образцов препаратов эндофитных бактерий рода *Bacillus*, выделенных из внутренних тканей картофеля сорта Сударыня ($M \pm SEM$; опытное поле ФГБНУ Ленинградского НИИ сельского хозяйства «Белогорка», д. Белогорка, Ленинградская обл., Гатчинский р-н, 2021 год)

Вариант	Ризоктониоз					Фитофтороз			
	стебли		столоны		БЭ, %	P, %	R, балл	БЭ, %	
	P, %	R, балл	P, %	R, балл					
Ч а р о и т (устойчивый сорт)									
Чистый контроль	100	1,0	100	2,6±0,3 ^a	—	100	2,1±0,30 ^a	—	—
Химический контроль	100	1,0	100	2,5±0,3 ^a	3,8	6,7	0,1±0,01 ^c	95,2	95,2
БисолбиСан, Ж	100	1,0	100	2,5±0,3 ^a	3,8	88,9	0,9±0,1 ^b	57,2	57,2
<i>B. amyloliquefaciens</i> P20	100	1,0	100	2,3±0,3 ^a	11,5	90,5	1,2±0,07 ^b	42,9	42,9
<i>B. thuringiensis</i> W65	100	1,0	100	2,6±0,4 ^a	—	100	2,1±0,2 ^a	—	—
НСР ₀₅				0,6			0,8		
Г у с а р (восприимчивый сорт)									
Чистый контроль	100	1,0	100	2,9±0,1 ^a	—	100	7,2±0,2 ^a	—	—
Химический контроль	100	1,0	100	2,4±0,2 ^b	17,2	28,9	0,7±0,04 ^c	90,3	90,3
БисолбиСан, Ж	100	1,0	100	2,6±0,2 ^{ab}	10,3	100	6,9±0,2 ^a	4,2	4,2
<i>B. amyloliquefaciens</i> P20	100	1,0	100	2,5±0,1 ^{ab}	13,7	98,0	6,2±0,1 ^b	13,8	13,8
<i>B. thuringiensis</i> W65	100	1,0	100	2,9±0,3 ^a	—	100	7,1±0,5 ^a	1,4	1,4
НСР ₀₅				0,5			0,8		

Примечание. БЭ — биологическая эффективность. Число учетных растений при оценке заболеваемости ризоктониозом в каждом варианте — 24, при заболеваемости фитофторозом — 45. БЭ — биологическая эффективность препарата. Прочерки означают отсутствие статистически достоверной прибавки по отношению к контролю.

a, b, c Разные буквы означают, что средние величины показателя для вариантов в столбце статистически значимо различаются по тесту Дункана при $p < 0,05$.

Погодные условия вегетационных сезонов 2020–2021 годов не способствовали развитию ризоктониоза. Число пораженных растений (стеблей)

и столонов) во всех вариантах опыта в фазу бутонизации на обоих сортах картофеля составило 100 %, однако поражение было очень слабым — 1 балл по шкале развития ризоктониоза (табл. 6). Несмотря на фунгицидную активность изучаемых препаратов на основе *B. thuringiensis* W65 и *B. amyloliquefaciens* P20, выявленную в лабораторных экспериментах, они не оказали эффективного действия на развитие ризоктониоза в полевых условиях (табл. 6). Однако на сорте Чароит препарат на основе штамма *B. amyloliquefaciens* P20 был более эффективен против ризоктониоза, чем химические средства защиты, а на сорте Гусар имел сопоставимый эффект (см. табл. 6, рис. 4).

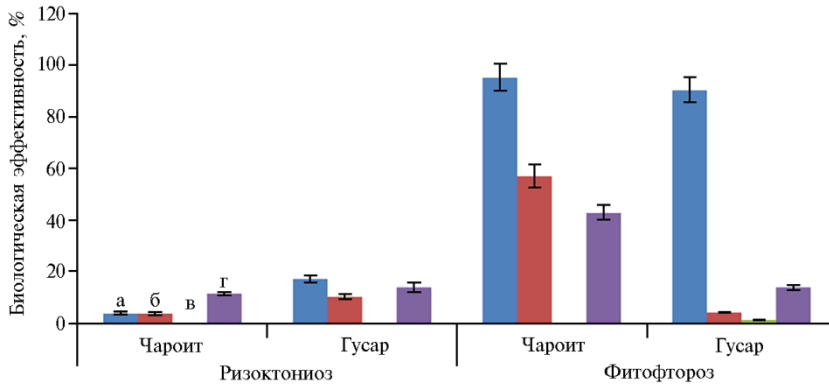


Рис. 4. Биологическая эффективность химических фунгицидов и экспериментальных образцов препаратов на основе штаммов эндофитных бактерий рода *Bacillus*, выделенных из внутренних тканей картофеля сорта Сударьяня, против ризоктониоза и фитофтороза на картофеле (*Solanum tuberosum* L.) двух сортов, выращенных в условиях мелкоделяночных полевых опытов: а — химический контроль, б — БисолбиСан, Ж, в — *B. thuringiensis* W65, г — *B. amyloliquefaciens* P20 ($n = 24$, $M \pm SEM$; опытное поле ФГБНУ Ленинградского НИИ сельского хозяйства «Белогорка», д. Белогорка, Ленинградская обл., Гатчинский р-н, 2021 год).

Таким образом, слабое развитие ризоктониоза и фитофтороза в полевых условиях 2021 года не позволило полноценно оценить фунгицидный эффект как химических, так и биологических средств защиты растений. Очевидно, что оценку фунгицидного эффекта препаратов на основе *B. thuringiensis* W65 и *B. amyloliquefaciens* P20 необходимо проводить в модельных опытах с использованием инфекционного фона фитопатогенных грибов в условиях фитотрона.

Известно, что на сегодняшний день в Российской Федерации не обнаружено ни одного сорта картофеля с иммунитетом к ризоктониозу (24). Анализ данных литературы показал, что штамм *B. subtilis* SR22 проявлял высокую антагонистическую активность против *Rhizoctonia solani* и снижал развитие заболевания на 53,8 % на растениях томата. Обработка этим штаммом увеличила общее содержание фенолов (на 76,8 %) и активность антиоксидантных ферментов пероксидазы (на 56 %) и полифенолоксидазы (на 29,2 %) в корнях томатов (40). *Bacillus subtilis* HussainT-AMU, изолированный из клубней картофеля, продуцировал сурфактин и снижал развитие ризоктониоза картофеля на 50 % в полевых условиях (60).

Анализ заболеваемости растений картофеля фитофторозом показал, что химические фунгициды максимально сократили развитие и распространенность заболевания, тогда как препараты на основе штаммов *B. amyloliquefaciens* P20 и *B. thuringiensis* W65 незначительно повлияли на его распространение (табл. 6). Под влиянием погодных условий второй половины августа, вызвавших почвенную засуху, защита микробиологическими пре-

паратами не была достаточно эффективной. Распространенность болезни при применении эталона БисолбиСан и препарата *B. amyloliquefaciens* P20 составила соответственно 89 и 90 % на сорте Чароит. Однако биологические средства защиты позволили снизить развитие фитофтороза на сорте Чароит на 57,1 и 42,9 % в вариантах с применением БисолбиСан и препарата на основе *B. amyloliquefaciens* P20 (см. рис. 4, 5). Наши данные подтверждают результаты других авторов. Так, применение микробиологического препарата на основе *Bacillus velezensis* SDTB038 позволяло снизить заболеваемости фитофторозом на 40,79 и 37,67 % в 2018–2019 годах (57). Как полагают некоторые исследователи, прогресс в применении эндофитов против фитофтороза может быть достигнут в случае интегрированной схемы защиты, совместного использования биопрепаратов с небольшими дозами фунгицидов и индукторами системной устойчивости растений (57, 68–70).



Рис. 5. Развитие фитофтороза на сорте картофеля (*Solanum tuberosum* L.) Чароит на дату проведения фитопатологического учета: слева — чистый контроль, справа — обработка препаратом на основе *Bacillus amyloliquefaciens* P20 (опытное поле ФГБНУ Ленинградского НИИ сельского хозяйства «Белогорка», д. Белогорка, Ленинградская обл., Гатчинский р-н, 29 августа 2021 года).

Итак, в полевых мелкоделяночных опытах показано, что при инокуляции растений картофеля сортов Чароит и Гусар экспериментальными образцами препаратов на основе штаммов эндофитных бактерий *Bacillus amyloliquefaciens* P20 и *B. thuringiensis* W65 продолжительность цветения растений картофеля обоих сортов увеличилась на 8–13 сут по сравнению с контролем, а урожайность клубней — на 7,9–14,6 %. Изменилась структура урожая, у картофеля сорта Чароит выход максимальной фракции увеличился на 22,5–30,6 %. При этом использование экспериментальных образцов не оказало достоверного влияния на развитие ризоктониоза. Однако установлена биологическая эффективность препарата на основе штамма *B. amyloliquefaciens* P20 (42,8 %) для снижения развития фитофтороза на сорте Чароит. Препарат на основе штамма *B. amyloliquefaciens* P20 может быть рекомендован для дальнейших испытаний в производственных полевых опытах как биофунгицид, а препарат на основе штамма *B. thuringiensis* W65 в качестве стимулятора роста.

*¹ФГБНУ Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии,
196608 Россия, г. Санкт-Петербург—Пушкин, ш. Подбельского, 3,
e-mail: vladchebotar@yandex.ru ✉, chizhevskaya@yandex.ru,
ksu.sha09@yandex.ru, mashul991@mail.ru, pisemnet@mail.ru,*

*Поступила в редакцию
9 марта 2023 года*

veronika-bio@rambler.ru;

²Ленинградский НИИ сельского хозяйства «Белогорка» — филиал ФГБНУ Федеральный исследовательский центр картофеля им. А.Г. Лорха, 188338 Россия, Ленинградская обл., Гатчинский р-н, д. Белогорка, ул. Институтская, 1, e-mail: balakina.swetlana2010@yandex.ru, gadzhiev.nadim@yandex.ru, lebedeva.vera2011@yandex.ru;

³ФГБНУ Всероссийский НИИ защиты растений, 196608 Россия, г. Санкт-Петербург—Пушкин, ш. Подбельского, 3, e-mail: khiutti@mail.ru;

⁴Северо-Западный центр междисциплинарных исследований проблем продовольственного обеспечения — обособленное подразделение ФГБНУ Санкт-Петербургский ФИЦ РАН, 196608 Россия, г. Санкт-Петербург—Пушкин, ш. Подбельского, 7, лит. А, e-mail: tipolis@yandex.ru

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2023, V. 58, № 3, pp. 429-446

THE EFFECT OF ENDOPHYTIC BACTERIA *Bacillus thuringiensis* W65 AND *B. amyloliquefaciens* P20 ON THE YIELD AND THE INCIDENCE OF POTATO RHIZOCTONIOSIS AND LATE BLIGHT

V.K. Chebotar¹ ✉, A.N. Zaplatkin¹, S.V. Balakina², N.M. Gadzhiev², V.A. Lebedeva², A.V. Khiutti³, E.P. Chizhevskaya¹, P.S. Filippova⁴, O.V. Keleinikova¹, M.E. Baganova¹, V.N. Pishchik¹

¹All-Russian Research Institute for Agricultural Microbiology, 3, sh. Podbel'skogo, St. Petersburg, 196608 Russia, e-mail vladchebotar@rambler.ru (✉ corresponding author), chizhevskaya@yandex.ru, ksu.sha09@yandex.ru, mashul991@mail.ru, pisemnet@mail.ru, veronika-bio@rambler.ru;

²Leningrad Research Agriculture Institute Belogorka — Branch of Lorkh Russian Potato Research Center, 1, ul. Institutskaya, Belogorka, Gatchina District, Laningrad Province, 188338 Russia, e-mail balakina.swetlana2010@yandex.ru, gadzhiev.nadim@yandex.ru, lebedeva.vera2011@yandex.ru;

³All-Russian Research Institute of Plant Protection, 3, sh. Podbel'skogo, St. Petersburg, 196608 Russia, e-mail khiutti@mail.ru;

⁴St. Petersburg Federal Research Center RAS, North-West Centre of Interdisciplinary Researches of Problems of Food Maintenance, 7, sh. Podbelskogo, St. Petersburg—Pushkin, 196608 Russia, e-mail tipolis@yandex.ru

ORCID:

Chebotar V.K. orcid.org/0000-0001-9762-989X
Zaplatkin A.N. orcid.org/0000-0001-6695-6716
Balakina S.V. orcid.org/0000-0001-7320-3640
Gadzhiev N.M. orcid.org/0000-0001-6787-8449
Lebedeva V.A. orcid.org/0000-0001-8131-9395
Khiutti A.V. orcid.org/0000-0003-1479-7746

Chizhevskaya E.P. orcid.org/0000-0002-7715-8696
Filippova P.S. orcid.org/0000-0001-9726-8844
Keleinikova O.V. orcid.org/0000-0002-8372-5079
Baganova M.E. orcid.org/0000-0002-1821-2154
Pishchik V.N. orcid.org/0000-0001-6422-4837

Acknowledgements:

Supported financially by the project “Development of selection and seed production of potatoes in the Russian Federation” from the Federal Scientific and Technical Program for the Development of Agriculture for 2017-2025
The authors declare no conflict of interests

Final revision received March 09, 2023

doi: 10.15389/agrobiol.2023.3.429eng

Accepted April 04, 2023

Abstract

Chemical fungicides are chemicals used to combat late blight and potato rhizoctoniosis. However, due to repeated treatments, the resistance of plant pathogens to fungicides increases. Bio-fungicides serve as an alternative to chemical fungicides. The use of strains of endophytic bacteria of the genus *Bacillus* is promising for the development of novel biofungicides. Endophytes, being inside plants, have an advantage in interactions with the plant compared to bacteria occupying other ecological niches. In this work, for the first time, the effectiveness of experimental samples of preparations based on strains of endophytic bacteria of the genus *Bacillus* was established when growing potato (*Solanum tuberosum* L.) varieties differing in resistance to late blight in the conditions of the North-West of the Russian Federation. It is known that the effectiveness of the use of endophytes with biocontrol activity differed in the field when growing potatoes, while the varietal responsiveness of potatoes to biocontrol agents has not been sufficiently studied. The aim of the research was to study the effect of experimental samples of preparations of endophytic bacteria *B. thuringiensis* W65 and *B. amyloliquefaciens* P20 on the yield and infection of potato plants with rhizoctoniosis and late blight.

Strains of endophytic bacteria *B. thuringiensis* W65 and *B. amyloliquefaciens* P20 isolated from potatoes had antagonistic activity to phytopathogens-pathogens of late blight *Phytophthora infestans* (Mont. de Bary) and rhizoctoniosis *Rhizoctonia solani* (Kuhn.) when growing on agar media. Small-scale field experiments (2020-2021) were conducted at the experimental field of the Leningrad Research Agriculture Institute Belogorka. The experiment scheme included the following options: clean control — no treatments; chemical control — treatment with chemical fungicides: CELEST® Top, SC (Syngenta, Russia), Mankoceb, WP (AgroRus and Co., Russia), Rapid Duo, WP (AgroRus and Co., Russia), Infinito, SC (Bayer Crop Science, Germany), Buzzer, SC (CROPEX, Russia) and desiccant Golden Ring (Agro Expert group, Russia); biological control — BisolbiSan (BISOLBI INTER, Russia), the biofungicide based on rhizospheric bacteria *Bacillus subtilis* Ch-13; experimental sample of the preparation *B. thuringiensis* W65, experimental sample of the preparation *B. amyloliquefaciens* P2. Two potato varieties, Charoit (resistant to late blight) and Gusar (susceptible to late blight), were used. In the experiments, the dynamics of plant growth and development, yield and infection of potato plants with rhizoctoniosis and late blight were evaluated. Statistical treatment of the obtained results (calculations of averages and their standard errors, ANOVA analysis of variance, Duncan's test, was carried out using the Statistica 10 program («StatSoft, Inc.», USA). When inoculated with experimental samples of *B. amyloliquefaciens* P20 and *B. thuringiensis* W65, the duration of flowering of potato plants increased by 8-13 days compared to the control. The potato tuber harvest also increased by 7.9-14.6 % ($p < 0.05$). The largest increase in yield was registered on the Gusar variety in 2020. It was found that responses of potato varieties to inoculation with experimental samples of *B. amyloliquefaciens* P20 and *B. thuringiensis* W65 preparations differed. The yield of potato tubers of the Charoit variety mainly increased due to an increase in the average weight of one tuber while the yield of the Gusar variety increased due to an increase in the number of tubers per plant. When inoculated with experimental samples of *B. amyloliquefaciens* P20 and *B. thuringiensis* W65, the crop structure changed, the yield of the large tuber fraction increased by 22.5-30.6 % ($p < 0.05$) in Charoit variety. The use of experimental samples of *B. amyloliquefaciens* P20 and *B. thuringiensis* W65 did not have a significant effect on the development of rhizoctoniosis in small-scale experiments. The *B. amyloliquefaciens* P20-based preparation showed 42.8 % biological efficacy in reducing the development of late blight on the potato variety Charoit. Preparation of endophytic bacteria based on *B. amyloliquefaciens* P20 can be recommended for further testing in commercial field trials when growing potatoes in an integrated protection system together with chemical fungicides and inducers of systemic plant resistance.

Keywords: endophytic bacteria, *Bacillus thuringiensis* W65, *Bacillus amyloliquefaciens* P20, biofungicides, tuber harvest, potatoes, rhizoctoniosis, late blight.

REFERENCES

1. Alekseeva K.L., Volkov E.I., Rudakov V.O. Protiv mikofov kartofelya. *Kartofel' i ovoshchi*, 2015, 3: 27-28.
2. Fry W. *Phytophthora infestans*: the plant (and R gene) destroyer. *Molecular Plant Pathology*, 2008, 9(3): 385-402 (doi: 10.1111/J.1364-3703.2007.00465.X).
3. Ivanov A.A., Ukladov E.O., Golubeva T.S. *Phytophthora infestans*: An overview of methods and attempts to combat late blight. *J. Fungi (Basel)*, 2021, 7(12): 1071 (doi: 10.3390/jof7121071).
4. Kamoun S. A catalogue of the effector secretome of plant pathogenic oomycetes. *Annual Review of Phytopathology*, 2006, 44: 41-60 (doi: 10.1146/annurev.phyto.44.070505.143436).
5. Vleeshouwers V.G., Rietman H., Krenek P., Champouret N., Young C.A., Oh S., Wang M., Bouwmeester K., Vosman B., Visser R., Jacobsen E., Govers F., Kamoun S., van der Vossen E.A. Effector genomics accelerates discovery and functional profiling of potato disease resistance and *Phytophthora infestans* avirulence genes. *PLoS ONE*, 2008, 3(8): e2875 (doi: 10.1371/journal.pone.0002875).
6. Wang Sh., Boevink P.C., Welsh L., Zhang R., Stephen C. Whisson S.C., Birch P.R.J. Delivery of cytoplasmic and apoplastic effectors from *Phytophthora infestans* haustoria by distinct secretion pathways *New Phytol.*, 2017, 216(1): 205-215 (doi: 10.1111/nph.14696).
7. Tian M., Win J., Song J., van der Hoorn R., van der Knaap E., Kamoun S. A *Phytophthora infestans* cystatin-like protein targets a novel tomato papain-like apoplastic protease. *Plant Physiology*, 2007, 143(1): 364-377 (doi: 10.1104/pp.106.090050).
8. Kaschani F., Shabab M., Bozkurt T., Shindo T., Schornack S., Gu C., Ilyas M., Win J., Kamoun S., van der Hoorn R. An effector-targeted protease contributes to defense against *Phytophthora infestans* and is under diversifying selection in natural hosts. *Plant Physiology*, 2010, 154(4): 1794-1804 (doi: 10.1104/pp.110.158030).
9. Dong S., Stam R., Cano L.M., Song J., Sklenar J., Yoshida K., Bozkurt T.O., Oliva R., Liu Z., Tian M., Win J., Banfield M.I., Jones A.M.E., van der Hoorn R.A.L., Kamoun S. Effector specialization in a lineage of the Irish potato famine pathogen. *Science*, 2014, 343(6170): 552-555 (doi: 10.1126/science.1246300).

10. Anderson R.G., Deb D., Fedkenheuer K., McDowell J.M. Recent progress in RXLR effector research. *Mol Plant Microbe Interact*, 2015, 28(10): 1063-1072 (doi: 10.1094/MPMI-01-15-0022-CR).
11. Lehsten V., Wiik L., Hannukkala A., Andreasson E., Chen D., Ou T., Liljeroth E., Lankinen A., Grenville-Briggs L. Earlier occurrence and increased explanatory power of climate for the first incidence of potato late blight caused by *Phytophthora infestans* in Fennoscandia. *PLoS ONE*, 2017, 12(5): e0177580 (doi: 10.1371/journal.pone.0177580).
12. Raza W., Ghazanfar M.U., Sullivan L., Cooke D.E.L., Cooke L.R. Mating type and aggressiveness of *phytophthora infestans* (Mont.) de Bary in potato-growing areas of Punjab, Pakistan, 2017-2018 and identification of genotype 13_A2 in 2019-2020. *Potato Res.*, 2021, 64: 115-129 (doi: 10.1007/s11540-020-09467-9).
13. Cohen Y. Populations of *Phytophthora infestans* in Israel underwent three major genetic changes during 1983 to 2000 *Phytopathology*, 2002, 92(3): 300-307 (doi: 10.1094/PHYTO.2002.92.3.300).
14. Zoteeva N.M., Vasipov V.V., Orina A.S. *Vestnik zashchity rasteniy*, 2020, 103(2): 99-104 (doi: 10.31993/2308-6459-2020-103-2-13347) (in Russ.).
15. Mukherjee N. Sheath blight of rice (*Thanatephorus cucumeris*) and its control possibilities. *Pesticides*, 1978, 12(8): 39-40.
16. Tsror L. Biology, epidemiology and management of *Rhizoctonia solani* on potato. *Journal of Phytopathology*, 2010, 158(10): 649-658 (doi: 10.1111/j.1439-0434.2010.01671.x).
17. Anderson J.P., Sperschneider J., Win J., Kidd B., Yoshida K., Hane J., Saunders D., Singh K.B. Comparative secretome analysis of *Rhizoctonia solani* isolates with different host ranges reveals unique secretomes and cell death inducing effectors. *Sci. Rep.*, 2017, 7: 10410 (doi: 10.1038/s41598-017-10405-y).
18. Wei M., Wang A.J., Liu Y., Ma L., Niu X., Zheng A. Identification of the novel effector RsIA_NP8 in *Rhizoctonia solani* AG1 IA that induces cell death and triggers defense responses in non-host plants. *Front Microbiol.*, 2020, 11: 1115 (doi: 10.3389/fmicb.2020.01115).
19. Charova S.N., Dörfors F., Holmquist L., Moschou P.N., Dixelius C., Tzelepis G. The RsRlpA Effector is a protease inhibitor promoting *Rhizoctonia solani* virulence through suppression of the hypersensitive response. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, 21(21): 8070 (doi: 10.3390/ijms21218070).
20. Udalova E.Yu. *Vestnik Mariyskogo gosudarstvennogo universiteta*, 2018, 16, 4: 72-78 (in Russ.).
21. Zeyruk V.N., Vasil'eva S.V., Kolesova E.A., Bukharova A.R. *Zashchita i karantin rasteniy*, 2022, 3: 18-21 (in Russ.).
22. Shcherbakova L.A. Fungicide resistance of plant pathogenic fungi and their chemosensitization as a tool to increase anti-disease effects of triazoles and strobilurines (review). *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2019, 54(5): 875-891 (doi: 10.15389/agrobiology.2019.5.875eng).
23. Pavlyushin V.A., Novikova I.I., Boykova I.V. Microbiological control in phytosanitary optimization technologies for agroecosystems: research and practice (review). *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2020, 55(3): 421-438 (doi: 10.15389/agrobiology.2020.3.421eng).
24. Belov D.A., Khyutti A.V. *Kartofel' i ovoshchi*, 2022, 5: 18-24 (doi: 10.25630/PAV.2022.52.94.003) (in Russ.).
25. Tyuterev S.L. *Vestnik zashchity rasteniy*, 2001, 1: 38-53 (in Russ.).
26. Hahn M. The rising threat of fungicide resistance in plant pathogenic fungi: *Botrytis* as a case study. *J. Chem. Biol.*, 2014, 7: 133-141 (doi: 10.1007/s12154-014-0113-1).
27. Childers R., Danies G., Myers K., Fei Z., Small I.M., Fry W.E. Acquired resistance to mefenoxam in sensitive isolates of *Phytophthora infestans*. *Phytopathology*, 2015, 105(3): 342-349 (doi: 10.1094/PHYTO-05-14-0148-R).
28. Schepers H.T.A.M., Kessel G.J.T., Lucca F., Forsh M.G., van den Bosch G.B.M., Topper C.G., Evenhuis A. Reduced efficacy of fluazinam against *Phytophthora infestans* in the Netherlands. *Eur. J. Plant. Pathol.*, 2018, 151: 947-960 (doi: 10.1007/s10658-018-1430-y).
29. Wang W., Fang Y., Imran M., Hu Z., Zhang S., Huang Z., Liu X. Characterization of the field fludioxonil resistance and its molecular basis in *Botrytis cinerea* from Shanghai province in China. *Microorganisms*, 2021, 9(2): 266 (doi: 10.3390/microorganisms9020266).
30. González-Tobón J., Childers R., Olave C., Regnier M., Rodríguez-Jaramillo A., William Fry W., Silvia Restrepo S., Danies G. Is the phenomenon of mefenoxam-acquired resistance in *Phytophthora infestans* universal? *Plant Disease*, 2020, 104(1): 211-221 (doi: 10.1094/PDIS-10-18-1906-RE).
31. Fry W.E., Birch P.R.J., Judelson H.S., Grünwald N.J., Danies G., Everts K.L., Gevens A.J., Gugino B.K., Johnson D.A., Johnson S.B., McGrath M.T., Myers K.L., Ristaino J.B., Roberts P.D., Secor G., Smart C.D. Five reasons to consider *Phytophthora infestans* a reemerging pathogen. *Phytopathology*, 2015, 105(7): 966-981 (doi: 10.1094/PHYTO-01-15-0005-FI).
32. Leesutthiphonchai W., Vu A.L., Ah-Fong A.M.V., Judelson H.S. How does *Phytophthora infestans* evade control efforts? Modern insight into the late blight disease. *Phytopathology*, 2018, 108(8): 916-924 (doi: 10.1094/PHYTO-04-18-0130-IA).
33. Maridueña-Zavala M., Freire-Pecaherrera A., Cevallos-Cevallos J., Peralta E. GC-MS metabolite profiling of *Phytophthora infestans* resistant to metalaxyl. *Eur. J. Plant Pathol.*, 2017, 149: 563-574 (doi: 10.1007/s10658-017-1204-y).

34. Khalaeva V.I., Volchkevich I.G. V sbornike: *Zashchita rasteniy* [In: Plant protection]. Minsk, 2021: 168-175 (doi: 10.47612/0135-3705-2021-45-168-175) (in Russ.).
35. Titova Yu.A., Novikova I.I., Boykova I.V., Pavlyushin V.A., Krasnobaeva I.L. Novel solid-phase multibiorecycled biologics based on *Bacillus subtilis* and *Trichoderma asperellum* as effective potato protectants against *Phytophthora* disease. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2019, 54(5): 1002-1013 (doi: 10.15389/agrobiol.2019.5.1002reng).
36. Yarullina L.G., Burkhanova G.F., Tsvetkov V.O., Cherepanova E.A., Zaikina E.A., Sorokan' A.V., Maksutova V.O., Kalatskaya Zh.N., Maksimov I.V. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*, 2022, 58(2): 185-194 (doi: 10.31857/S0555109922020179) (in Russ.).
37. Kaur A., Sharma V., Kumar A. Assessment of late blight resistance in Indian potato cultivars and associated biochemical changes during disease development. *Potato Res.*, 2022, 65(4): 863-879 (doi: 10.1007/s11540-022-09553-0).
38. Bibi F., Yasir M., Song G.-C., Lee S.-Y., Chung Y.-R. Diversity and characterization of endophytic bacteria associated with tidal flat plants and their antagonistic effects on oomycetous plant pathogens. *The Plant Pathology Journal*, 2012, 28(1): 20-31 (doi: 10.5423/PPJ.OA.06.2011.0123).
39. Toral L., Rodríguez M., Béjar V., Sampedro I. Crop protection against *Botrytis cinerea* by rhizosphere biological control agent *Bacillus velezensis* XT1. *Microorganisms*, 2020, 8(7): 992 (doi: 10.3390/microorganisms8070992).
40. Rashad Y.M., Abbas M.A., Soliman H.M., Abdel-Fattah G.G., Abdel-Fattah G.M. Synergy between endophytic *Bacillus amyloliquefaciens* GGA and arbuscular mycorrhizal fungi induces plant defense responses against white rot of garlic and improves host plant growth. *Phytopathol. Mediterr.*, 2020, 59(1): 169-186 (doi: 10.36253/phyto-11019).
41. Cui L., Yang C., Wei L., Li T., Chen X. Isolation and identification of an endophytic bacteria *Bacillus velezensis* 8-4 exhibiting biocontrol activity against potato scab. *Biological Control*, 2020, 141: 104156 (doi: 10.1016/j.biocontrol.2019.104156).
42. Sharma A., Kaushik N., Sharma A., Bajaj A., Rasane M., Shouche Y.S., Marzouk T., Djǐbali N. Screening of tomato seed bacterial endophytes for antifungal activity reveals lipopeptide producing *Bacillus siamensis* strain NKIT9 as a potential bio-control agent. *Front. Microbiol.*, 2021, 12: 1228 (doi: 10.3389/fmicb.2021.609482).
43. Mardanova A.M., Hadiyeva G.F., Lutfullin M.T., Khilyas I.V., Minnullina L.F., Gilyazeva A.G., Bogomolnaya L.M., Sharipova M.R. *Bacillus subtilis* strains with antifungal activity against the phytopathogenic fungi. *Agricultural Sciences*, 2017, 8(1): 1-20 (doi: 10.4236/as.2017.81001).
44. Sidorova T.M., Asaturova A.M., Khomyak A.I., Tomashevich N.S. Isolation and characterization of antifungal metabolites of *Bacillus subtilis* strains BZR 336G and BZR 517 using the modified bioautography method. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2019, 54(1): 178-185 (doi: 10.15389/agrobiol.2019.1.178eng).
45. Rashad Y.M., Abdalla S.A., Sleem M.M. Endophytic *Bacillus subtilis* SR22 triggers defense responses in tomato against rhizoctonia root rot. *Plants*, 2022, 11(15): 2051 (doi: 10.3390/plants11152051).
46. Wang Y., Zhang C., Liang J., Wang L., Gao W., Jiang J., Chang R. Surfactin and fengycin B extracted from *Bacillus pumilus* W-7 provide protection against potato late blight via distinct and synergistic mechanisms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2020, 104: 7467e7481 (doi: 10.1007/s00253-020-10773-y).
47. Sorokan A., Benkovskaya G., Burkhanova G., Blagova D., Maksimov I. Endophytic strain *Bacillus subtilis* 26DCryChS producing CryIIa toxin from *Bacillus thuringiensis* promotes multifaceted potato defense against *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary and Pest *Leptinotarsa decemlineata* Say. *Plants*, 2020, 9(9): 1115 (doi: 10.3390/plants9091115).
48. Maksimov I.V., Blagova D.K., Veselova S.V., Sorokan A.V., Burkhanova G.F., Cherepanova E.A., Sarvarova E.R., Rumyantsev S.D., Alekseev V.Y., Khayrullin R.M. Recombinant *Bacillus subtilis* 26DCryChS line with gene BcryIIa encoding CryIIa toxin from *Bacillus thuringiensis* promotes integrated wheat defense against pathogen *Stagonospora nodorum* Berk. and green bug *Schizaphis graminum* Rond. *Biological Control*, 2020, 144: 326-338 (doi: 10.1016/j.biocontrol.2020.104242).
49. Reyes-Ramirez A., Escudero-Abarca B.I., Aguilar-Uscanga G., Hayward-Jones P.M., Barboza-Corona J.E. Antifungal activity of *Bacillus thuringiensis* chitinase and its potential for the biocontrol of phytopathogenic fungi in soybean seeds. *Journal of Food Science*, 2004, 69(5): M131-M134 (doi: 10.1111/j.1365-2621.2004.tb10721.x).
50. Tang Y., Zou J., Zhang L., Li Z., Ma C., Ma N. Anti-fungi activities of *Bacillus thuringiensis* H3 chitinase and immobilized chitinase particles and their effects to rice seedling defensive enzymes. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 2012, 12(10): 8081-8086 (doi: 10.1166/jnn.2012.6639).
51. Tang M., Sun X., Zhang S., Wan J., Li L., Ni H. Improved catalytic and antifungal activities of *Bacillus thuringiensis* cells with surface display of Chi9602DeltaSP. *Journal of Applied Microbiology*, 2017, 122(1): 106-118 (doi: 10.1111/jam.13333).
52. Ni H., Zeng S., Qin X., Sun X., Zhang S., Zhao X., Yu Z., Li L. Molecular docking and site-directed mutagenesis of a *Bacillus thuringiensis* chitinase to improve chitinolytic, synergistic lepidopteran-larvicidal and nematocidal activities. *Int. J. Biol. Sci.*, 2015, 11(3): 304-315 (doi: 10.1186/s12911-015-0288-8).

53. Vasil'eva E.N., Akhtemova G.A., Zhukov V.A., Tikhonovich I.A. *Ekologicheskaya genetika*, 2019, 17(1): 19-32 (doi: 10.17816/ecogen17119-32) (in Russ.).
54. Su Y., Liu C., Fang H., Zhang D. *Bacillus subtilis*: a universal cell factory for industry, agriculture, biomaterials and medicine. *Microb. Cell Factor.*, 2020, 19: 173 (doi: 10.1186/s12934-020-01436-8).
55. El-Hasan A., Ngatia G., Link T.I., Voegelé R.T. isolation, identification, and biocontrol potential of root fungal endophytes associated with solanaceous plants against potato late blight (*Phytophthora infestans*). *Plants*, 2022, 11(12): 1605 (doi: 10.3390/plants11121605).
56. Berg G., Krechel A., Ditz M., Sikora R. A., Ulrich A., Hallmann J. Endophytic and ectophytic potato-associated bacterial communities differ in structure and antagonistic function against plant pathogenic fungi. *FEMS Microbiology Ecology*, 2005, 51(2): 215-229 (doi: 10.1016/j.femsec.2004.08.006).
57. Yan H., Qiu Y., Yang S., Wang Y., Wang K., Jiang L., Wang H. Antagonistic activity of *Bacillus velezensis* SDTB038 against *Phytophthora infestans* in potato. *Plant Disease*, 2021, 105(6): 1738-1747 (doi: 10.1094/PDIS-08-20-1666-RE).
58. Kim M.J., Shim C.K., Park J.-H. Control efficacy of *Bacillus velezensis* AFB2-2 against potato late blight caused by *Phytophthora infestans* in organic potato cultivation. *The Plant Pathology Journal*, 2021, 37(6): 580-595 (doi: 10.5423/PPJ.FT.09.2021.0138).
59. Kumber B., Mahmood R., Nagesha S.N., Nagaraja M.S., Prashant D.G., Kerima O.Z., Karosiya A., Chavan M. Field application of *Bacillus subtilis* isolates for controlling late blight disease of potato caused by *Phytophthora infestans*. *Biocatal Agric Biolotechnol*, 2019, 22: 101366 (doi: 10.1016/J.BCAB.2019.101366).
60. Hussain T., Khan A.A. *Bacillus subtilis* HussainT-AMU and its Antifungal activity against Potato Black scurf caused by *Rhizoctonia solani* on seed tubers. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2020, 23: 101443 (doi: 10.1016/j.bcab.2019.101443).
61. Gaynatullina V.V., Makarova M.A. *Dal'nevostochnyy agrarnyy vestnik*, 2018, 47, 3: 7-12 (in Russ.).
62. Gerkhart F.-M. *Metody obshchey bakteriologii* [Methods of bacteriology]. Moscow, 1983 (in Russ.).
63. Magnusson J., Schnürer J. *Lactobacillus coryniformis* subsp. *coryniformis* strain Si3 produces a broad-spectrum proteinaceous antifungal compound. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(1): 1-5 (doi: 10.1128/AEM.67.1.1-5.2001).
64. *Metodicheskie ukazaniya po registratsionnym ispytaniyam fungitsidov v sel'skom khozyaystve* /Pod redaktsiyey V.I. Dolzhenko [Guidelines for registration testing of fungicides in agriculture. V.I. Dolzhenko (ed.)]. St. Petersburg, 2009 (in Russ.).
65. Derevyagina M.K., Vasil'eva S.V., Zeyruk V.N., Belov G.L. *Agrokhimicheskiy vestnik*, 2018, 5: 65-68 (in Russ.).
66. Chebotar V.K., Zaplatkin A.N., Komarova O.V., Baganova M.E., Chizhevskaya E.P., Polukhin N.I., Balakina S.V. Endophytic bacteria for development of microbiological preparations for increasing productivity and protection of new potato varieties. *Research on Crops*, 2021, 22: 104-107 (doi: 10.31830/2348-7542.2021.025).
67. Lastochkina O.V. Adaptation and tolerance of wheat plants to drought mediated by natural growth regulators *Bacillus* spp.: mechanisms and practical importance (review). *Sel'skokhozyaystvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2021, 56(5): 843-867 (doi: 10.15389/agrobiol.2021.5.843eng).
68. Hashemi M., Tabet D., Sandroni M., Benavent-Celma C., Seematti J., Andersen C.B., Grenville-Briggs L. The hunt for sustainable biocontrol of oomycete plant pathogens, a case study of *Phytophthora infestans*. *Fungal Biology Reviews*, 2021, 40: 53-69 (doi: 10.1016/j.fbr.2021.11.003).
69. Shukla N., Lemke P., Moerschbacher B.M., Kumar J. 'Cu-Chi-Tri', a new generation combination for knowledge-based management of oomycete pathogen, *Phytophthora infestans*. In: *Emerging trends in plant pathology*. K.P. Singh, S. Jahagirdar, B.K. Sarma (eds.). Springer, Singapore, 2021: 297-315 (doi: 10.1007/978-981-15-6275-4_13).
70. Lastochkina O., Puseenkova L., Garshina D., Kasnak C., Palamutoglu R., Shpirnaya I., Mardanshin I., Maksimov I. Improving the biocontrol potential of endophytic bacteria *Bacillus subtilis* with salicylic acid against *Phytophthora infestans*-caused postharvest potato tuber late blight and impact on stored tubers quality. *Horticulturae*, 2022, 8(2): 117 (doi: 10.3390/horticulturae8020117).