

Ростостимулирующие, антиоксидантные и фунгицидные свойства эндофитных бактерий *Bacillus thuringiensis* на картофеле при заражении ризоктониозом*

В. С. МАСЛЕННИКОВА^{1,2}, В. П. ЦВЕТКОВА¹, Е. В. БЕДАРЕВА^{1,2}, Г. В. КАЛМЫКОВА²,
И. М. ДУБОВСКИЙ^{1,2}

¹Новосибирский государственный аграрный университет, ул. Добролюбова, 160, Новосибирская область, 630039, Российская Федерация

²Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН (СФНЦА РАН), пос. Краснообск, Новосибирский р-н, Новосибирская обл., 630501, Российская Федерация

Резюме. Изучали ростостимулирующие и фунгицидные свойства эндофитных бактерий *Bacillus thuringiensis* spp. *morrisoni* и *Bacillus thuringiensis* spp. *dacota* на картофеле. Оценку физиологических и биохимических показателей картофеля, а также устойчивость к ризоктониозу *Rhizoctonia solani* при воздействии энтомопатогенных штаммов проводили с целью уточнения процессов патогенеза возбудителя и механизмов действия бактерий *Bacillus thuringiensis* в условиях Западной Сибири. Работу выполняли в 2020–2021 гг. в Новосибирской области. Схема эксперимента включала 6 вариантов в 5-и повторностях: обработка клубней двумя штаммами *Bacillus thuringiensis* spp. *morrisoni* и spp. *dacota*, в сравнении с контролем и на искусственном зараженном фоне *Rhizoctonia solani*. Ингибиторная активность *Bt* spp. *morrisoni* составила 84,0 %, *Bt* spp. *dacota* – 63,5 %. При заселении миниклубней грибом *Rhizoctonia solani* наблюдали угнетение роста и развития растения, снижение концентрации хлорофилла *a* и *b* в 1,1...1,2 раза, а также нарушение окислительно-восстановительного баланса, сопровождающееся накоплением малонового диальдегида и усилением активности пероксидазы. Воздействие на этом фоне бактерий *B. thuringiensis* spp. *morrisoni* и *B. thuringiensis* spp. *dacota* на растения вызвало увеличение биомассы в 1,1 раза, числа и длины стеблей – в 1,4 раза, концентрации фотосинтетических пигментов в 1,3 раза и способствовало сохранению антиоксидантного равновесия. При этом концентрация малонового диальдегида, активность полифенолоксидазы и содержание аскорбиновой кислоты в растениях под воздействием бактерий не изменялись.

Ключевые слова: энтомопатогенные бактерии, *Bacillus thuringiensis* spp. *morrisoni*, *Bacillus thuringiensis* spp. *dacota*, *Rhizoctonia solani*, картофель, малоновый диальдегид, пероксидаза, фотосинтетические пигменты, эндофитность.

Сведения об авторах: В. С. Масленникова, научный сотрудник (e-mail: vladislava.maslennikova@mail.ru); В. П. Цветкова, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент; Е. В. Бедарева, аспирант; Г. В. Калмыкова, кандидат биологических наук, научный сотрудник; И. М. Дубовский, доктор биологических наук, профессор.

Для цитирования: Ростостимулирующие, антиоксидантные и фунгицидные свойства эндофитных бактерий *Bacillus thuringiensis* на картофеле при заражении ризоктониозом / В. С. Масленникова, В. П. Цветкова, Е. В. Бедарева и др. // Достижения науки и техники АПК. 2022. Т. 36. №7. С. 49–55. doi: 10.53859/02352451_2022_36_7_49.

*исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-316-90006.

Growth-promoting, antioxidant, and fungicidal properties of endophytic bacteria *Bacillus thuringiensis* on potatoes infected with rhizoctonia root and stem rot

V. S. Maslennikova^{1,2}, V. P. Tsvetkova¹, E. V. Bedareva^{1,2}, G. V. Kalmykova², I. M. Dubovskii^{1,2}

¹Novosibirsk State Agrarian University, ul. Dobrolyubova, 160, Novosibirsk, 630039, Russian Federation

²Siberian Federal Research Center of Agricultural Biotechnology, Russian Academy of Sciences, pos. Krasnoobsk, Novosibirsk r-n, Novosibirskaya obl., 630501, Russian Federation

Abstract. Studied growth- promoting and fungicidal properties of endophytic bacteria *Bacillus thuringiensis* spp. *morrisoni* and *Bacillus thuringiensis* spp. *dacota* on potatoes. The assessment of the physiological and biochemical parameters of potatoes, as well as the resistance to *Rhizoctonia solani* under the influence of entomopathogenic strains, was carried out to clarify the processes of pathogenesis of the pathogen and the mechanisms of action of *Bacillus thuringiensis* bacteria in Western Siberia. The work was carried out in 2020–2021 in the Novosibirsk region. The experimental design included 6 variants in 5 replicates: treatment of tubers with two strains of *Bacillus thuringiensis* spp. *morrisoni* and spp. *dacota*, in comparison with the control and on an artificially infected background of *Rhizoctonia solani*. Inhibitory activity of *Bt* spp. *morrisoni* was 84.0%, *Bt* spp. *dacota* – 63.5%. When minitubers were colonized by the fungus *Rhizoctonia solani*, inhibition of plant growth and development, a decrease in the concentration of chlorophyll *a* and *b* by 1.1–1.2 times, as well as a violation of the redox balance, accompanied by the accumulation of malondialdehyde and increase peroxidase activity, were observed. The impact on this background of bacteria *B. thuringiensis* spp. *morrisoni* and *B. thuringiensis* spp. *dacota* on plants caused an increase in biomass by 1.1 times, the number and length of stems by 1.4 times, the concentration of photosynthetic pigments by 1.3 times, protein and peroxidase activity. At the same time, the concentration of malondialdehyde, the activity of polyphenol oxidase and the content of ascorbic acid in plants did not change under the influence of bacteria.

Keywords: entomopathogenic bacteria; *Bacillus thuringiensis* spp. *morrisoni*; *Bacillus thuringiensis* spp. *dacota*; *Rhizoctonia solani*; potato; MDA; peroxidase; photosynthetic pigments; endophyte.

Author Details: V. S. Maslennikova, research fellow (e-mail: vladislava.maslennikova@mail.ru); V. P. Tsvetkova, Cand. Sc. (Agr.), assoc. prof.; E. V. Bedareva, post graduate student; G. V. Kalmykova, Cand. Sc. (Biol.), research fellow; I. M. Dubovskii, D. Sc. (Biol.), prof.

For citation: Maslennikova VS, Tsvetkova VP, Bedareva EV, et al. [Growth-promoting, antioxidant, and fungicidal properties of endophytic bacteria *Bacillus thuringiensis* on potatoes infected with rhizoctonia root and stem rot]. Dostizheniya nauki i tekhniki APK. 2022;36(7):49–55. Russian. doi: 10.53859/02352451_2022_36_7_49.

Изучение механизмов устойчивости растений к повреждающему действию биотических факторов – одна из фундаментальных проблем

биологии. Ее решение имеет принципиальное значение для понимания стратегии выживания растений в условиях патогенеза. Одна из ответных реакций

растений на действие фитопатогенных грибов – усиление генерации в клетках активных форм кислорода [1]. Для предотвращения их избыточного накопления предназначены антиоксидантные ферменты и низкомолекулярные соединения [2]. Несмотря на то, что интерес к изучению биохимии патогенеза уже многие годы не ослабевает, ряд ее особенностей, в частности, при одновременном заражении и обработке эндофитными организмами, остается не до конца исследованным. Актуальность этой проблемы определяет еще и то, что на сегодняшний день в России потери урожая от ризоктониоза составляют 25 % и более. Снижение товарности клубней, связанное с появлением на поверхности склероциев, а также сопутствующим изменением их формы, размера и количества, может достигать 30 % [3]. На сегодня не существуют методов борьбы с ризоктониозом, способных его полностью искоренить. Наиболее действенной стратегией считают обработку клубней перед посадкой химическими или биологическими препаратами [4].

К одним из перспективных методов биологического контроля вредных организмов относят использование эндофитных бактерий, стимулирующих рост растений, проявляющих полифункциональную активность против фитофагов и фитопатогенов, и способных длительное время находиться внутри растений [5, 6, 7].

Bacillus thuringiensis – широко распространенная в природе грамположительная бактерия и хорошо известный эффективный биоинсектицид. Бактериальные препараты на её основе в рекомендуемых дозах безопасны для полезных насекомых; малоопасны для птиц, теплокровных животных, рыб и человека [8]. Кроме того, *B. thuringiensis* привлекает значительное внимание как потенциальный агент биологической защиты для подавления болезней растений [9].

Среди представителей рода *Bacillus* идентифицировано много видов с эндофитными свойствами [10]. Бактерии *B. thuringiensis* помимо увеличения роста, биомассы и устойчивости растений, повышали активность антиоксидантных ферментов (каталазы, супероксиддисмутазы, аскорбатпероксидазы), уменьшали окислительное повреждение липидов [11, 12, 13].

Бактерии рода *Bacillus* обладают фунгицидной и стимулирующей активностью [14, 15], способны синтезировать антибиотики [16], фитогормоны – ауксины, гиббереллины, цитокинины, абсцизины, этилен [17]. Обнаружены штаммы *B. thuringiensis*, запускающие в растениях системную устойчивость к патогенам. Например, *Bacillus thuringiensis* 199 индуцирует системную устойчивость томатов к фузариозному увяданию (*Fusarium oxysporum*) [18]. Кроме того, благодаря экспрессии защитных генов *B. thuringiensis* подавляют бактериальное увядание, вызываемое *Ralstonia solanacearum* [19].

Таким образом, использование *B. thuringiensis* как основы микробиологических препаратов с многофункциональной активностью открывает возможности для их повсеместного применения, что будет способствовать улучшению экологической обстановки в агроценозах картофеля.

Цель исследования – оценка физиологических и биохимических показателей картофеля, а также его устойчивости к ризоктониозу *Rhizoctonia solani* при воздействии энтомопатогенных штаммов для уточне-

ния процессов патогенеза возбудителя и механизмов действия бактерий *Bacillus thuringiensis*.

Условия, материалы, методы. Объектами исследований служили энтомопатогенные штаммы бактерий *Bacillus thuringiensis* spp. *morrisoni* и *Bacillus thuringiensis* spp. *dacota* (предоставлены микробиологами Сибирского федерального научного центра агробιοтехнологий РАН Г. В. Калмыковой, Н. И. Акулиной), фитопатогенный гриб *Rhizoctonia solani* (из коллекции лаборатории биологической защиты и биотехнологии Новосибирского государственного аграрного университета), клубни картофеля сорта Тулеевский.

Для оценки эффективной концентрации бактерий *Bacillus thuringiensis* в отношении фитопатогенного гриба *Rhizoctonia solani* проводили лабораторные исследования в чашках Петри. В ходе работы тестировали 4 концентрации энтомопатогенных штаммов бактерий *Bacillus thuringiensis* spp. *morrisoni* ($2,7 \times 10^4$, $\times 10^5$, $\times 10^6$, $\times 10^7$ КОЕ/мл) и *Bacillus thuringiensis* spp. *dacota* ($5,6 \times 10^4$, $\times 10^5$, $\times 10^6$, $\times 10^7$ КОЕ/мл). Оптимальная концентрация бактерий определена в чашках Петри (среда – картофельно-глюкозный агар) при совместном культивировании бактерий с *Rhizoctonia solani*, повторность 5-и кратная. Учет проводили на 1...4, 7, 10 и 15-е сутки после посева. Действие штаммов оценивали по величине диаметра колонии фитопатогенного гриба, в сравнении с контролем (картофельно-глюкозный агар и фитопатоген). Оптимальная концентрация была выбрана для дальнейшей оценки ростостимулирующего действия. Эксперимент выполняли на базе лаборатории биологической защиты и биотехнологии Новосибирского государственного аграрного университета в 2020–2021 гг. Клубни культивировали в пластиковых горшках (объемом 0,7 л) в боксах при температуре 24 ± 1 °C, фотопериоде 16/8 часов: свет/темнота.

Схема эксперимента включала 6 вариантов по 15 растений в каждом:

- контроль;
- клубни, заселенные *Rhizoctonia solani*;
- клубни, обработанные *Bt* spp. *morrisoni*;
- клубни, обработанные *Bt* spp. *dacota*;
- клубни, обработанные *Bt* spp. *morrisoni* + *Rhizoctonia solani*;
- клубни, обработанные *Bt* spp. *dacota* + *Rhizoctonia solani*.

Искусственное заражение клубней *Rhizoctonia solani* проводили согласно методике F. Genzel [20]. Ростостимулирующее действие штаммов определяли увеличением морфометрических показателей обработанных клубней в период вегетации, таких как длина надземной части, количество стеблей, биомасса растения. Пробы для определения биохимических показателей отбирали у растений на 4-ю неделю после посадки. Определение биохимических показателей проводили методом спектрофотометрии с помощью планшетного спектрофотометра Thermo Scientific Varioskan LUX. Пробы гомогенизировали с помощью гомогенизатора MagNA Lyser. Определение содержания фотосинтетических пигментов осуществляли методом, основанным на способности пигментов поглощать лучи определенной длины волны [21]. Концентрации хлорофиллов *a* и *b* в вытяжке рассчитывали по формуле Вернона. Для определения концентрации каротиноидов (мг/л) в суммарной вытяжке пигментов использовали формулу Веттштейна

[21]. Содержание аскорбиновой кислоты определяли прямой спектрофотометрией при 265 нм по методике Hewitt E. J. и Dickes G. J. (Hewitt E. J., Dickes G. J. *Spectrophotometric measurements on ascorbic acid and their use for the estimation of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in plant tissue* // *Biochem. J.* 1961. Vol. 78. No. 2. P. 384–391.), пероксидазы (ПО) – методом, основанным на измерении оптической плотности продуктов реакции, образовавшихся при окислении гваякола за определенный промежуток времени (Методы биохимического исследования растений / А. И. Ермаков, В. В. Арасимович, Н. П. Ярош и др. Л.: Агропромиздат, 1987. С. 44–45.). Активность полифенолоксидазы (ПФО) определяли методом, который основан на измерении оптической плотности продуктов реакции, образовавшихся при окислении пирокатехина за определенный промежуток времени (*Characterization of Oxidative Enzyme Changes in Buffalograsses Challenged by Blissus occiduus* / T. Heng-Moss, F. Novak, D. Bose, et al. // *Journal of economic entomology*. 2004. No. 97. P. 1086–1095. doi: 10.1603/0022-0493(2004)097[1086:COOECI]2.0.CO;2.), концентрацию малонового диальдегида (МДА) – в реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой (Stewart R. R. C., Bewley J. D. *Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes* // *Plant Physiol.* 1980. Vol. 65. P. 245–248.), белка в листьях картофеля – методом Бредфорда (Bradford M.M. *A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding* // *Anal Biochem.* 1976. Vol. 72. No. 1. P. 248–254.).

Для определения эндофитности бактерий использовали пробирочные стерильные растения картофеля сорта Тулеевский, культивируемые в течение 25 суток при 16-часовой освещенности в климатоканнере на агаризованной среде Мурасиге-Скуга. Растения

картофеля инокулировали экспериментальными штаммами микроорганизмов согласно методике, представленной в работе [22]. Оценивали эндофитность путем подсчета числа колониеобразующих единиц (КОЕ) микроорганизмов в поверхностно стерилизованных тканях растений через 7 дней после инокуляции. Для этого навески поверхностно-стерилизованного растительного материала гомогенизировали, затем их аликвоты распределяли по поверхности картофельно-глюкозного агара до полного высыхания. Чашки Петри инкубировали при температуре 28 °С в термостате в течение 24 ч. Подсчет КОЕ выполняли во втором и третьем разведении, их количество пересчитывали на 1 г сырой массы растений.

Данные анализировали с использованием GraphPad Prism v8.0 (GraphPad Software Inc, США). Сравнение морфометрических показателей проводили с помощью t-критерия.

Результаты и обсуждение. При оценке на эндофитность содержание *Bacillus thuringiensis* spp. *dacota* в тканях растений картофеля составляло $2,9 \times 10^4$ КОЕ/г сырой массы, *Bacillus thuringiensis* spp. *morrisoni* – $3,5 \times 10^3$ КОЕ/г сырой массы. Ингибиторная активность в отношении гриба *Rhizoctonia solani* при использовании концентрации тестируемых бактерий $\times 10^6$ КОЕ/мл в лабораторном эксперименте в чашках Петри на 15-е сутки опыта была равна соответственно 63,5 % и 84,0 % (рис. 1, 2).

При измерении морфометрических показателей через 4 недели после посадки клубней в горшки в варианте с клубнями, заселенными *Rhizoctonia solani*, наблюдали угнетение роста и развития растений, что в дальнейшем повлияло на снижение содержания фотосинтетических пигментов в листьях (рис. 3). Высота надземной части уменьшилась, относительно контроля, в 1,2 раза ($p = 0,04$), количество стеблей – в

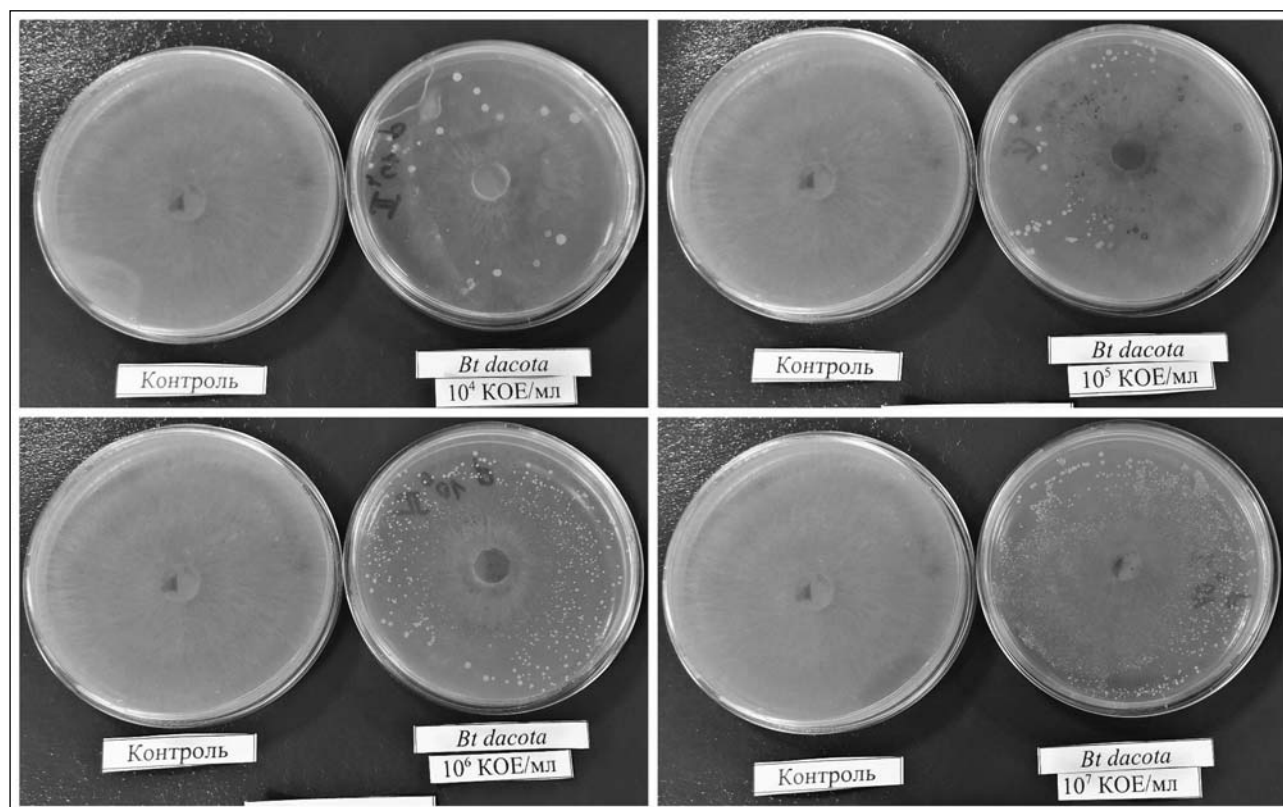


Рис. 1. Ингибиторная активность *Bacillus thuringiensis* spp. *dacota* в отношении *Rhizoctonia solani*.

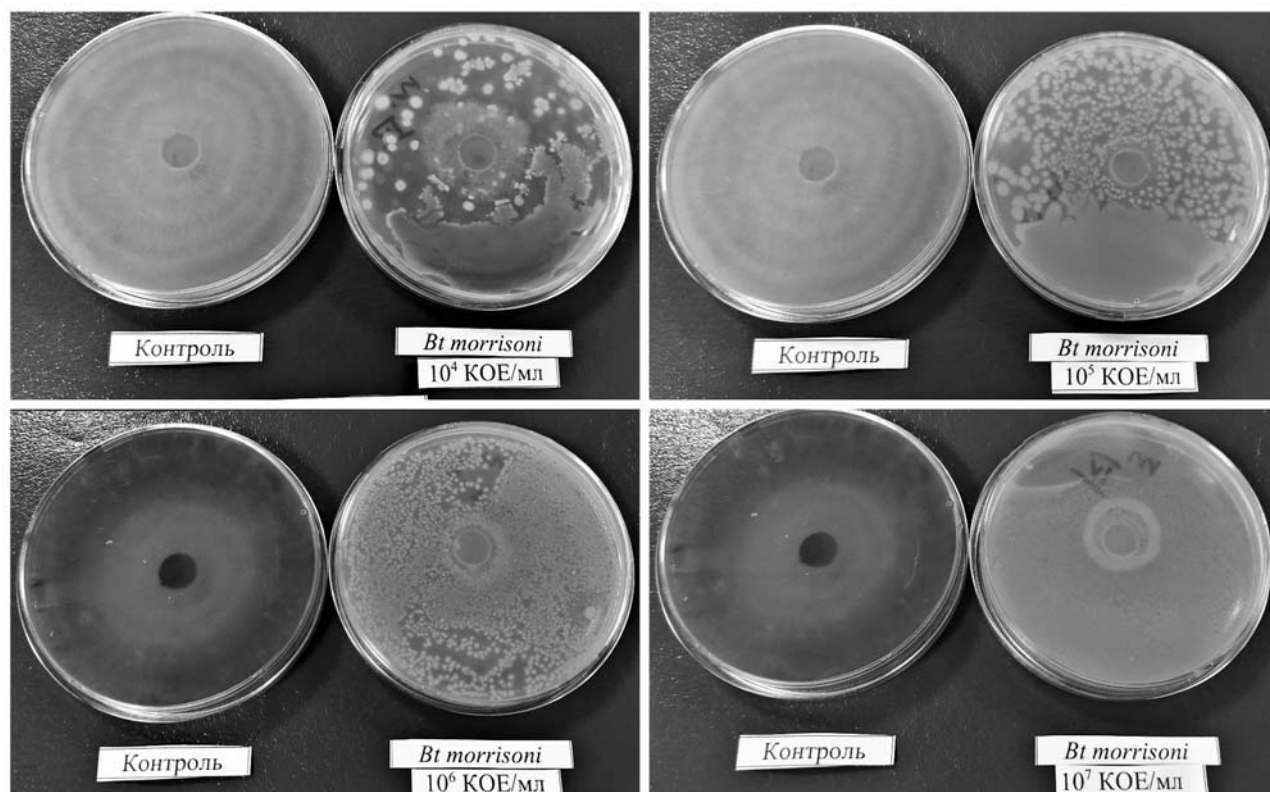


Рис. 2. Ингибиторная активность *Bacillus thuringiensis* spp. *morrisoni* в отношении *Rhizoctonia solani*.

1,25 раза ($p = 0,01$), биомасса растения – в 1,3 раза ($p = 0,05$). В вариантах с обработкой клубней *Bacillus thuringiensis* spp. *morrisoni* и spp. *dacota* происходило увеличение морфометрических показателей, относительно контроля: биомасса увеличивалась в 1,15 раза (*Bt* spp. *morrisoni*), длина надземной часть – на 9,5 % (*Bt* spp. *dacota*)...15,3 % (*Bt* spp. *morrisoni*) (p

$= 0,04$). В вариантах с искусственным заражением *Rhizoctonia solani* с обработкой клубней *Bacillus thuringiensis* spp. *morrisoni* отмечали рост биомассы растения, в сравнении с контрольным вариантом в 1,3 раза ($p = 0,01$), количества стеблей – в 1,6 раза ($p = 0,03$), длины стеблей – в 1,4 раза ($p = 0,03$). При заражении ризоктониозом и обработке *Bt* spp.

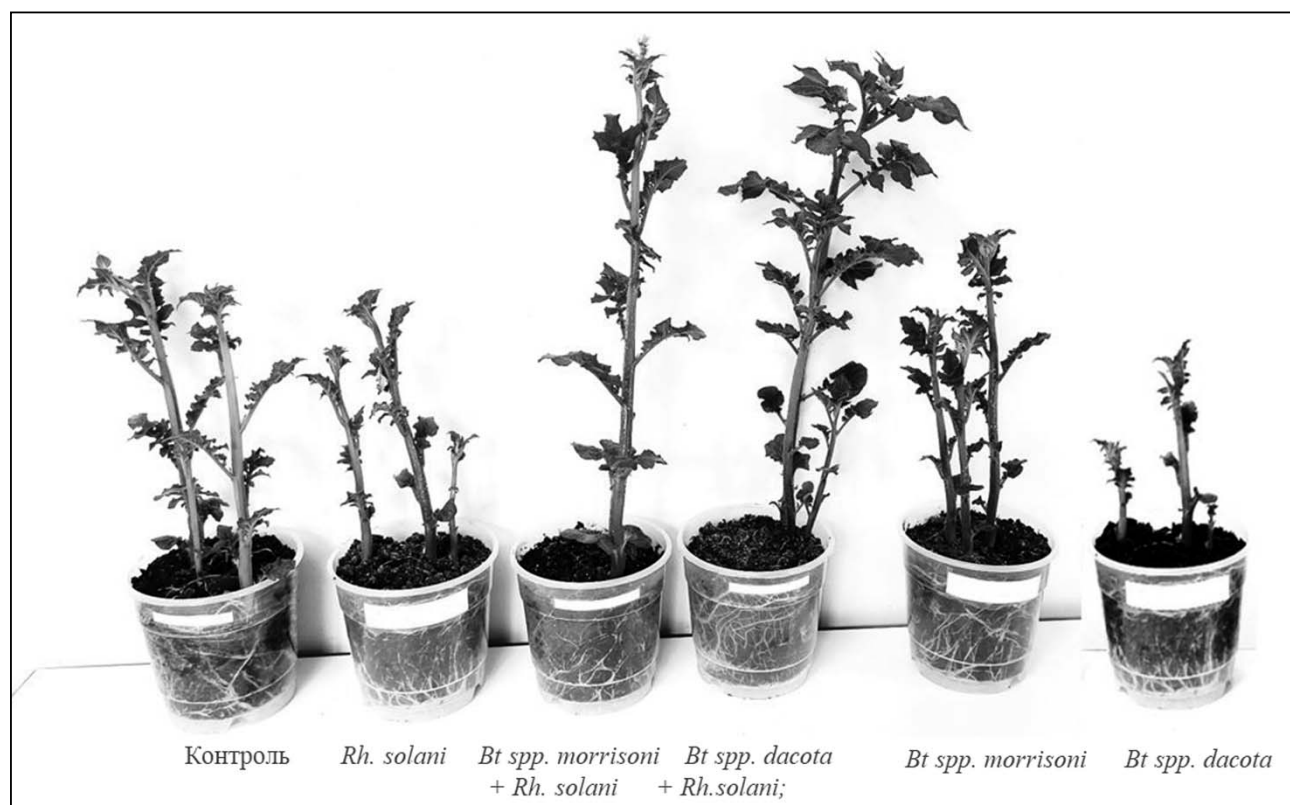


Рис. 3. Влияние штаммов *Bacillus thuringiensis* на рост и развитие картофеля, зараженного *Rhizoctonia solani*.

Таблица. Биохимические показатели картофеля при воздействии энтомопатогенных штаммов *Bacillus thuringiensis* и искусственном заражении *Rhizoctonia solani*

Вариант	Концентрация хлорофилла, мг/л		Концентрация малонового диальдегида, нМ МДА/мг белка	Активность пероксидазы, усл. ед./мг белка	Содержания аскорбиновой кислоты, мкМ/г
	a	b			
Контроль	25,25	36,77	4,63	0,0957	11,7219
<i>Rhizoctonia solani</i>	22,95*	30,64*	6,60*	0,1339*	11,6136
<i>Bt</i> spp. <i>morrisoni</i>	23,25	35,5	3,45	0,0978	11,838
<i>Bt</i> spp. <i>dacota</i>	24,25	34,5	3,01	0,1049	12,0801
<i>Bt</i> spp. <i>morrisoni</i> + <i>Rhizoctonia solani</i>	30,68*	40,13*	4,31	0,1952*	11,7621
<i>Bt</i> spp. <i>dacota</i> + <i>Rhizoctonia solani</i>	26,69	32,61	3,75	0,2825*	11,5848

*разница между средними величинами вариантов и контроля достоверна для уровня значимости $p < 0,05$.

dacota наблюдали тенденцию увеличения биомассы растения и количества стеблей в 1,1 раза ($p = 0,07$), а также достоверное увеличение длины надземной части в 1,4 раза ($p = 0,01$).

При искусственном заражении растений картофеля фитопатогенным грибом *Rhizoctonia solani* отмечали снижение концентрации хлорофилла *a* и *b* в листьях в 1,1...1,2 раза, белка – на 11 %, относительно контроля. Фитопатоген вызывал окислительный стресс в листьях картофеля, выявленный по накоплению малонового диальдегида и усилению активности ПО. Активность пероксидазы возрастала в 1,4 раза ($p < 0,05$), концентрация малонового диальдегида увеличилась на 42,5 % ($p = 0,0009$), относительно незараженных растений (см. табл.).

Использование *Bacillus thuringiensis* spp. *morrisoni* повышало уровень хлорофилла *a* в листьях картофеля с 25,3 мг/г в контроле до 30,7 мг/г. Содержание хлорофилла *b* для опытной и контрольной групп было сходным. Концентрация каротиноидов увеличилась в опытных вариантах, по сравнению с контрольным, на 14,3 %, а содержание пигментов в листья картофеля – в 1,3 раза ($p < 0,05$). При обработке клубней штаммом *Bacillus thuringiensis* spp. *dacota* концентрация хлорофилла *a* и *b*, а также каротиноидов значимо не изменялась.

Содержание МДА в листьях картофеля во всех опытных вариантах (с заражением и без) оставалось на уровне контроля ($p = 0,54$). Малоновый диальдегид токсичен и химически активен, способен взаимодействовать с аминокислотами, фосфолипидами, протеинами и может служить маркером перекисного окисления жиров и окислительного стресса в растении. Вероятно, отсутствие накопления МДА в листьях растений, обработанных бактериями *Bt*, защищает картофель от ризоктониоза из-за ослабления окислительного стресса [23].

При обработке клубней *Bt* spp. *dacota* и *Bt* spp. *morrisoni* без искусственного заражения *Rhizoctonia solani* активность пероксидазы оставалась на уровне контрольного варианта. Однако при искусственном заражении фитопатогенным грибом выявлено ее увеличение ($p = 0,00$) в этих вариантах в 3 и 2 раза, соответственно. Вероятной причиной повышения пероксидазной активности в листьях растений может служить проявление фитоиммунологического ответа со стороны растительных клеток при взаимодействии с возбудителем ризоктониоза [24]. Активация пероксидазы служит маркером изменений и нарушений растительного метаболизма. Кроме того, при ответе на стресс происходит *de novo* синтез отдельных изоэнзимов, однако описание регуляторного механизма синтеза ферментов при стрессе и патологических

процессах требует дополнительных исследований [25]. Таким образом, при искусственном заражении *Rhizoctonia solani* растений, обработанных *B. thuringiensis*, отмечаемый рост пероксидазной активности может оказаться причиной ростостимулирующего эффекта и повышения урожайности картофеля.

Полифенолоксидаза играет важную роль в защите растений от абиотических стрессоров и патогенного воздействия. Этот фермент также участвует в процессах метаболизма, способствуя адаптации к изменениям условий окружающей среды [26]. На 4-ю неделю учета в листьях картофеля, как без заражения, так и на фоне искусственного заражения *Rhizoctonia solani* активность полифенолоксидазы в опытных вариантах оставалась на уровне контроля ($p = 0,01$), что не позволяет считать этот фермент биохимическим маркером патологического процесса при заражении ризоктониозом.

Количественное содержание витамина С (аскорбиновой кислоты) в листьях во всех вариантах находилось в пределах от 11 до 12,88 мкМ/г ($p < 0,00$), что соответствует норме.

Результаты наших исследований согласуются с данными других авторов. Так, было показано, что совместное применение *Bacillus thuringiensis* с салициловой кислотой увеличивает устойчивость картофеля к фитофторозу благодаря активации ингибитора трипсина, накоплению перекиси водорода и транскриптов генов, кодирующих ингибиторы протеиназ [24]. В работе Л. Г. Яруллиной и др. авторов изучено совместное влияние энтофитных бактерий *Bacillus subtilis* 26Д и хитоолигосахаридов на устойчивость растений картофеля к возбудителю фитофтороза оомицету *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. Механизмы ее повышения были связаны с активацией каталазы, пероксидазы, ингибиторов гидролаз (амилазы и протеазы) [27]. Однако сведения о действии *Bacillus thuringiensis* на биохимические показатели картофеля при заражении ризоктониозом ранее не встречались и были показаны в нашей работе.

Выводы. В результате исследования подтверждены ростостимулирующие и фунгицидные свойства энтофитных бактерий *Bacillus thuringiensis* spp. *morrisoni* и *Bacillus thuringiensis* spp. *dacota* на картофеле. Искусственное заражение миникулубней грибом *R. solani* вызывало в листьях картофеля окислительный стресс, выявленный по накоплению малонового диальдегида (6,6 нМ МДА/мг белка), усилению активности пероксидазы в 1,4 раза и снижению концентрации хлорофилла *a* и *b* в 1,1...1,2 раза. При этом воздействие бактерий вызывало увеличение концентрации фотосинтетических пигментов до 30,7 мг/г, белка – на 11 %, от-

носителем контроля и способствовало сохранению антиоксидантного равновесия.

Таким образом, применение эндофитных бактерий *Bt* индуцирует системную устойчивость карто-

феля к ризоктониозу. Полученные результаты могут лечь в основу создания биологического препарата полифункционального действия для защиты и повышения урожайности картофеля.

Литература.

1. The significance of reactive oxygen species and antioxidant defense system in plants: A concise overview / J. Dumanovic, E. Nepovimova, M. Natic, et al. // *Front. Plant Sci.* 2021. Vol. 11. Article 552969. URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2020.552969/full> (дата обращения: 10.01.2022). doi: 10.3389/fpls.2020.552969.
2. Das K., Roychoudhury A. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants // *Front. Environ. Sci.* 2014. Vol. 2. Article 53. URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fenvs.2014.00053/full> (дата обращения: 15.01.2022). doi: 10.3389/fenvs.2014.00053.
3. Кузнецова М. А., Ерохова М. Д. Ризоктониоз – опаснейшее заболевание картофеля // *Защита и карантин растений.* 2021. № 4. С. 31–34. doi: 10.47528/1026-8634_2021_4_31.
4. Малюга А. А., Чуликова Н. С. Эффективность биологизированной и химической систем защиты цветных сортов картофеля // *Защита растений от вредных организмов: материалы X международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию Кубанского государственного аграрного университета.* Краснодар: Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина, 2021. С. 222–224.
5. Endophytic *Bacillus* bacteria living in sugarcane plant tissues and *Telchin licus licus* Larvae (Drury) (Lepidoptera: Castniidae): The symbiosis that may open new paths in the biological control / F. Y. O. Rocha, A. S. Negrisoli, G. F. Matos, et al. // *Front. Microbiol.* 2021. Vol. 12. Article 659965. URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2021.659965/full> (дата обращения: 25.01.2022). doi: 10.3389/fmicb.2021.659965.
6. Antifungal activity of *Bacillus* species against *Fusarium* and analysis of the potential mechanisms used in biocontrol / N. Khan, P. Martinez-Hidalgo, T. A. Ice, et al. // *Frontiers in Microbiology.* 2018. Vol. 9. Article 2363. URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2018.02363/full> (дата обращения: 16.02.2022). doi: 10.3389/fmicb.2018.02363.
7. Rui L. Plant-growth-promoting Bacteria (PGPB) against insects and other agricultural pests // *Agronomy.* 2020. Vol. 10. No. 6. Article 861. URL: <https://www.mdpi.com/2073-4395/10/6/861> (дата обращения: 20.02.2022). doi: 10.3390/agronomy10060861.
8. Биопрепараты на основе бактерий рода *Bacillus* для управления здоровьем растений / М. В. Штерншис, А. А. Беляев, В. П. Цветкова и др. Новосибирск: Сибирское отделение РАН, 2016. 233 с.
9. Штаммы *Bacillus thuringiensis* с ростостимулирующей и фунгицидной активностью / И. М. Горобей, В. В. Калмыкова, Н. В. Давыдова и др. // *Сибирский вестник сельскохозяйственной науки.* 2018. Т. 48. № 6. С. 5–12. doi: 10.26898/0370-8799-2018-6-1.
10. Стимулирующие рост растений бактерии в регуляции устойчивости растений к стрессовым факторам / И. В. Максимов, С. В. Веселова, Т. В. Нужная и др. // *Физиология растений.* 2015. Т. 62. № 6. С. 763–775.
11. Native plant growth promoting bacteria *Bacillus thuringiensis* and mixed or individual mycorrhizal species improved drought tolerance and oxidative metabolism in *Lavandula dentata* plants / E. Armada, A. Probanza, A. Roldan, et al. // *J. Plant Physiol.* 2016. Vol. 21. No. 192. Article 463. URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.00463/full> (дата обращения: 24.02.2022). doi: 10.1016/j.jplph.2015.11.007.
12. Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi and/or bacteria to enhancing plant drought tolerance under natural soil conditions: Effectiveness of autochthonous or allochthonous strains / N. Ortiz, E. Armada, E. Duque, et al. // *Journal of Plant Physiology.* 2015. Vol. 174. P. 87–96.
13. Endophytic colonization by Brazilian strains of *Bacillus thuringiensis* on cabbage seedlings grown in vitro / L. Praca, A. Gomes, G. Cabral, et al. // *Bt Research.* 2012. Vol. 3. No. 3. P. 11–19. doi: 10.5376/bt.2012.03.0003.
14. Induced systemic resistance by beneficial microbes / C. M. Pieterse, C. Zamioudis, R. L. Berendsen, et al. // *Annu. Rev. Phytopathol.* 2014. Vol. 52. P. 347–375.
15. Цветкова В. П., Масленникова В. С. Биопрепарат для защиты и повышения урожайности лука // *Картофель и овощи.* 2019. № 1. С. 14–16.
16. Rashid M. H., Chung Y. R. Induction of systemic resistance against insect herbivores in plants by beneficial soil microbes // *Front. Plant Sci.* 2017. Vol. 8. Article 1816. URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2017.01816/full> (дата обращения: 15.02.2022). doi: 10.3389/fpls.2017.01816.
17. Пробиотические препараты на основе микроорганизмов рода *Bacillus* / О. В. Федорова, А. И. Назмиева, Э. И. Нуретдинова и др. // *Вестник Казанского технологического университета.* 2016. Т. 19. № 15. С. 170–173.
18. Akram W., Mahboob A., Javed A. A. *Bacillus thuringiensis* strain 199 can induce systemic resistance in tomato against *Fusarium wilt* // *Eur J Microbiol Immunol.* 2013. Vol. 3. No. 4. P. 275–280. doi: 10.1556/EuJMI.3.2013.4.7.
19. *Bacillus thuringiensis* suppresses bacterial wilt disease caused by *Ralstonia solanacearum* with systemic induction of defense-related gene expression in tomato / H. Mitsuro, N. Mitsuyoshi, A. Tatsuyuki, et al. // *Microbes and Environments.* 2013. Vol. 28. No. 1. P. 128–134. doi: 10.1264/jsm2.ME12162.
20. Genzel F. The molecular basis of the plant-pathogen interaction of potato and *Rhizoctonia solani*. Berlin: Humboldt-Universität, 2017. 167 p.
21. Мякишева Е. П., Соколова Г. Г. Влияние качества света на содержание фотосинтетических пигментов картофеля (*Solanum tuberosum* L.) в культуре in vitro // *Известия Алтайского государственного университета.* 2014. № 3-2 (83). С. 46–49. doi: 10.14258/izvasu(2014)3.2-08.
22. Plant growth-promoting bacteria in regulation of plant resistance to stress factors / I. V. Maksimov, S. V. Veselova, T. V. Nuzhnaya, et al. // *Russ. J. Plant Physiol.* 2015. Vol. 62. No. 6. P. 715–726. doi: 10.1134/S1021443715060114.
23. Молекулярно-генетические и биохимические методы в современной биологии растений / под ред. Вл. В. Кузнецова, В. В. Кузнецова, Г. А. Романова. М.: Бином. Лаборатория знаний, 2012. 487 с.
24. Влияние совместной обработки эндофитным штаммом бактерий *Bacillus thuringiensis* B-5351 и салициловой кислотой на устойчивость растений картофеля к *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary / А. В. Сорокань, Г. Ф. Бурханова, В. Ю. Алексеев и др. // *Вестник Томского государственного университета. Биология.* 2021. № 53. С. 109–130.
25. Крыжко А. В., Кузнецова Л. Н. Влияние биоинсектицидов на основе *Bacillus thuringiensis* на пигментный комплекс и активность оксидаз в листьях картофеля // *ВЕСТНИК СВФУ.* 2018. № 4 (66). С. 5–11.
26. Палий А. Е. Изменение активности полифенолоксидазы в листьях маслины европейской в холодный период на южном берегу Крыма // *Бюллетень ГНБС.* 2020. Вып. 135. С. 66–71.

27. Стимулирование защитных механизмов *Solanum tuberosum* бактериями *Bacillus subtilis* и хитоолигосахаридами при инфицировании *Phytophthora infestans* / Л. Г. Яруллина, Г. Ф. Бурханова, В. О. Цветков и др. // Прикладная биохимия и микробиология. 2022. № 58. С. 185–194.

References

1. Dumanovis J, Nepovimova E, Natis M, et al. The significance of reactive oxygen species and antioxidant defense system in plants: A concise overview. *Front. Plant Sci* [Internet]. 2021 [cited 2022 Jan 10];11: Article 552969. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2020.552969/full>. doi: 10.3389/fpls.2020.552969.
2. Das K, Roychoudhury A. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. *Front. Environ. Sci* [Internet]. 2014 [cited 2022 Jan 15];2: Article 53. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fenvs.2014.00053/full>. doi: 10.3389/fenvs.2014.00053.
3. Kuznetsova MA, Erokhova MD. [Rhizoctonia is the most dangerous disease of potatoes]. *Zashchita i karantin rastenii*. 2021;(4):31-4. Russian. doi: 10.47528/1026-8634_2021_4_31.
4. Malyuga AA, Chulikova NS. [Efficiency of biologized and chemical protection systems for coloured potato varieties]. In: *Zashchita rastenii ot vrednykh organizmov: materialy X mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii, posvyashchennoi 100-letiyu Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta* [Plant protection from pests: Proceedings of the X international scientific and practical conference dedicated to the 100th Anniversary of the Kuban State Agrarian University]. Krasnodar (Russia): Kubanskii gosudarstvennyi agrarnyi universitet imeni I. T. Trubilina; 2021. p. 222-4. Russian.
5. Rocha FYO, Negrisoni AS, Matos GF, et al. Endophytic *Bacillus* bacteria living in sugarcane plant tissues and *Telchin licus licus* Larvae (Drury) (Lepidoptera: Castniidae): The symbiosis that may open new paths in the biological control. *Front. Microbiol* [Internet]. 2021 [cited 2022 Jan 25];12: Article 659965. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2021.659965/full>. doi: 10.3389/fmicb.2021.659965.
6. Khan N, Martinez-Hidalgo P, Ice TA, et al. Antifungal activity of *Bacillus* species against *Fusarium* and analysis of the potential mechanisms used in biocontrol. *Frontiers in Microbiology* [Internet]. 2018 [cited 2022 Feb 16];9: Article 2363. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2018.02363/full>. doi: 10.3389/fmicb.2018.02363.
7. Rui L. Plant-growth-promoting Bacteria (PGPB) against insects and other agricultural pests. *Agronomy* [Internet]. 2020 [cited 2022 Feb 20];10(6): Article 861. Available from: <https://www.mdpi.com/2073-4395/10/6/861>. doi: 10.3390/agronomy10060861.
8. Shternshis MV, Belyaev AA, Tsvetkova VP, et al. Biopreparaty na osnove bakterii roda *Bacillus* dlya upravleniya zdorov'em rastenii [Biological products based on bacteria of *Bacillus* genus for plant health management]. Novosibirsk (Russia): Sibirskoe otdelenie RAN; 2016. 233 p. Russian.
9. Gorobei IM, Kalmykova GV, Davydova NV, et al. [Bacillus thuringiensis strains with growth-stimulating and fungicidal activity]. *Sibirskii vestnik sel'skokhozyaistvennoi nauki*. 2018;48(6):5-12. Russian. doi: 10.26898/0370-8799-2018-6-1.
10. Maksimov IV, Veselova SV, Nuzhnaya TV, et al. [Plant growth-stimulating bacteria in the regulation of plant resistance to stress factors]. *Fiziologiya rastenii*. 2015;62(6):763-75. Russian.
11. Armada E, Probanza A, Roldan A, et al. Native plant growth promoting bacteria *Bacillus thuringiensis* and mixed or individual mycorrhizal species improved drought tolerance and oxidative metabolism in *Lavandula dentata* plants. *J. Plant Physiol* [Internet]. 2016 [cited 2022 Feb 24];21(192): Article 463. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.00463/full>. doi: 10.1016/j.jplph.2015.11.007.
12. Ortiz N, Armada E, Duque E, et al. Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi and/or bacteria to enhancing plant drought tolerance under natural soil conditions: Effectiveness of autochthonous or allochthonous strains. *Journal of Plant Physiology*. 2015;174:87-96.
13. Prasa L, Gomes A, Cabral G, et al. Endophytic colonization by Brazilian strains of *Bacillus thuringiensis* on cabbage seedlings grown in vitro. *Bt Research*. 2012;3(3):11-9. doi: 10.5376/bt.2012.03.0003.
14. Pieterse CM, Zamioudis C, Berendsen RL, et al. Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Annu. Rev. Phytopathol*. 2014;52:347-75.
15. Tsvetkova VP, Maslennikova VS. [Biological product to protect and increase the yield of onions]. *Kartofel' i ovoshchi*. 2019;(1):14-6. Russian.
16. Rashid MH, Chung YR. Induction of systemic resistance against insect herbivores in plants by beneficial soil microbes. *Front. Plant Sci* [Internet]. 2017 [cited 2022 Feb 15];8: Article 1816. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2017.01816/full>. doi: 10.3389/fpls.2017.01816.
17. Fedorova OV, Nazmieva AI, Nuretdinova EI, et al. [Probiotic preparations based on microorganisms of *Bacillus* genus]. *Vestnik Kazanskogo tekhnologicheskogo universiteta*. 2016;19(15):170-3. Russian.
18. Akram W, Mahboob A, Javed A. A. *Bacillus thuringiensis* strain 199 can induce systemic resistance in tomato against *Fusarium* wilt. *Eur J Microbiol Immunol*. 2013;3(4):275-80. doi: 10.1556/EuJMI.3.2013.4.7.
19. Mitsuru H, Mitsuyoshi N, Tatsuyuki A, et al. *Bacillus thuringiensis* suppresses bacterial wilt disease caused by *Ralstonia solanacearum* with systemic induction of defense-related gene expression in tomato. *Microbes and Environments*. 2013;28(1):128-34. doi: 10.1264/jsme2.ME12162.
20. Genzel F. The molecular basis of the plant-pathogen interaction of potato and *Rhizoctonia solani*. Berlin: Humboldt-Universität; 2017. 167 p.
21. Myakisheva EP, Sokolova GG. [Influence of light quality on the content of photosynthetic pigments of potato (*Solanum tuberosum* L.) in in vitro culture]. *Izvestiya Altaiskogo gosudarstvennogo universiteta*. 2014;(3-2):46-9. Russian. doi: 10.14258/izvasu(2014)3.2-08.
22. Maksimov IV, Veselova SV, Nuzhnaya TV, et al. Plant growth-promoting bacteria in regulation of plant resistance to stress factors. *Russ. J. Plant Physiol*. 2015;62(6):715-26. doi: 10.1134/S1021443715060114.
23. Kuznetsov VIV, Kuznetsov VV, Romanov GA, editors. *Molekulyarno-geneticheskie i biokhimicheskie metody v sovremennoi biologii rastenii* [Molecular genetic and biochemical methods in modern plant biology]. Moscow: Binom. Laboratoriya znaniy; 2012. 487 p. Russian.
24. Sorokan' AV, Burkhanova GF, Alekseev VYu, et al. [Influence of joint treatment with endophytic bacterial strain *Bacillus thuringiensis* B-5351 and salicylic acid on the resistance of potato plants to *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary]. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya*. 2021;(53):109-30. Russian.
25. Kryzhko AV, Kuznetsova LN. [Effect of bioinsecticides based on *Bacillus thuringiensis* on the pigment complex and oxidase activity in potato leaves]. *VESTNIK SVFU*. 2018;(4):5-11. Russian.
26. Palii AE. [Changes in the activity of polyphenol oxidase in European olive leaves during the cold period on the southern coast of Crimea]. *Byulleten' GNBS*. 2020;(135):66-71. Russian.
27. Yarullina LG, Burkhanova GF, Tsvetkov VO, et al. [Stimulation of defense mechanisms of *Solanum tuberosum* by *Bacillus subtilis* bacteria and chitoooligosaccharides during *Phytophthora infestans* infection]. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*. 2022;(58):185-94. Russian.