

Российская академия сельскохозяйственных наук
Всероссийский научно-исследовательский институт
сельскохозяйственной микробиологии
Всероссийский научно-исследовательский институт
агрохимии им. Д.Н.Прянишникова
Санкт-Петербургский государственный университет
низкотемпературных технологий Минобрнауки России

Чеботарь В.К., Завалин А.А., Кипрушкина Е.И.

Эффективность применения биопрепарата ЭКСТРАСОЛ

Москва 2007

УДК
ББК
Ч

Чеботарь В.К., Завалин А.А., Кипрушкина Е.Н.
Эффективность применения биопрепарата экстрасол. М.:
Издательство ВНИИА, 2007.- ??? с.

В работе раскрыты механизмы взаимодействия бактерий рода *Bacillus* с небобовыми растениями, показана биологическая фиксация азота, продуцирование фитогармонов, витаминов, ферментов антипатогенного действия, антибиотиков. Показана эффективность применения биопрепарата экстрасол на яровых и озимых, картофеле, овощных и технических культурах. Использование экстрасола обеспечивает повышение урожайности, улучшение качества получаемой продукции, обработка гранул аммиачной селитры препаратом бацилл повышает коэффициент использования растениями азота из удобрения. Обоснованы возможности использования препаратов группы экстрасол при хранении растениеводческой продукции.

Книга предназначена для микробиологов, агрохимиков, агроэкологов, специалистов по хранению сельскохозяйственной продукции, преподавателей и студентов ВУЗов, а также товаропроизводителей растениеводческой продукции.

Таблиц- , рисунков- , литература- 271.

**Книга издана при финансовой поддержке
ООО «БИСОЛБИ-ИНТЕР»**

ISBN

© Чеботарь В.К.

© Завалин А.А.

© Кипрушкина Е.И.

Предисловие

Во многих странах мира, в том числе и в России интерес к использованию достижений микробиологии в сельском хозяйстве неизмеримо возрос, расширены представления о роли микроорганизмов в жизни растений, сформулированы приоритетные практические задачи по дополнительному вовлечению азота и фосфора для растений [Okon, Labandera-Gonzalez, 1994; Mahaffee, Kloepper, 1996; Петров, Чеботарь, Казаков, 2002; Тихонович, Кожемяков, Чеботарь, 2005]. Технологии преимущественно основаны на использовании микробиологических препаратов, представляющих живые клетки отселектированных по полезным свойствам микроорганизмов, которые находятся или в культуральной жидкости, или адсорбированы на нейтральном носителе [Junge, Krebs, Kilian, 2000; Chebotar, Khotyanovich, Cazacov, 2000]. Применение микробиологических препаратов позволяет создать высокую концентрацию полезных форм микроорганизмов в нужном месте и в нужное время, за счет этого внесенные формы могут успешно конкурировать с аборигенной микрофлорой и занимать экологические ниши, представляемые им растениями [Kloepper, Scher, Laleberte, Zaleska, 1985; Lemanceau, Corberand, Gardan, 1995].

Одним из приоритетных направлений развития человечества, как было определено на Всемирном Саммите в Иоханнесбурге в 2002 г., стала концепция Устойчивого Развития, формирование которой было вызвано серьезной обеспокоенностью состояния окружающей среды и перспективами развития цивилизации в условиях продолжающегося роста населения Планеты. На Саммите было определено пять ключевых сфер, на которые должно быть обращено особое внимание: вода и канализация, энергетика, здравоохранение, сельское хозяйство, биоразнообразие.

Агроэкосистемы в настоящее время занимают 30% всей земной поверхности и включают наиболее продуктивные почвы [Altieri, 1991, Coleman, Hendrix, 1988]. Поэтому эффективное управление агроэкосистемами является наиболее важным средством сохранения и улучшения нашей биосферы. Сельское хозяйство оказывает значительное влияние на окружающую среду. Уменьшение почвенного плодородия приводит к водной и ветровой эрозии почв, потере органического вещества, водоудерживающей способности почв и снижению биологической активности. Низкое качество грунтовых вод оказывает отрицательное влияние на сельскохозяйственное производство, качество питьевой воды, производство рыбы. Другой серьезной экологической проблемой является то, что в настоящее время около 400 видов вредных насекомых и около 70 видов фитопатогенных грибов приобрели

устойчивость к одному или нескольким видам пестицидов [Gold,1999]. Воздействие сельского хозяйства на глобальные изменения климата только начинает изучаться [Иванов и др., 2004].

В настоящее время в мире преобладает система интенсивного сельскохозяйственного производства, которую еще иногда называют традиционной. Использование этой системы позволило промышленно развитым странам полностью обеспечить потребность в продуктах питания. Мировой Банк оценивает, что от 70 до 90% увеличения сельскохозяйственного производства приходится на использование системы интенсивного сельскохозяйственного производства, нежели на увеличение площади возделываемых культур. У систем интенсивного сельскохозяйственного производства в каждой стране есть свои особенности, однако, у них имеются и общие характеристики. Это быстрые технологические инновации; большие капиталовложения для применения современных агротехнологий и методов управления; крупные хозяйства для сельскохозяйственного производства; профильная монокультура, выращиваемая в течение многих лет; высокоурожайные гибриды сельскохозяйственных культур; интенсивное использование пестицидов, удобрений и энергоносителей; высокая эффективность использования рабочей силы [Gold,1999].

Однако, в последнее время эта практика сельскохозяйственного производства пересматривается во многих развитых странах мира. В первую очередь, это связано с растущей озабоченностью потребителей, ученых-экологов, законодателей и сельхозпроизводителей о том, что современное сельскохозяйственное производство должно резко сократить применение пестицидов. В связи с этим, получила развитие концепция «устойчивого сельского хозяйства». По закону, принятому Конгрессом США, устойчивое сельское хозяйство означает: интегрированную систему производства растительной и животной продукции, имеющую конкретное применение, которое в течение длительного времени позволит: удовлетворять потребности человека в пище и прядильных культурах; обогащать качество окружающей среды и натуральных ресурсов, от которых зависит аграрная экономика; сделать наиболее эффективным использование невозобновляемых и внутрихозяйственных ресурсов, а также интегрировать, где это возможно, биологические циклы и контроли; поддерживать экономическую жизнеспособность агропроизводства улучшать качество жизни как сельхозпроизводителей, так и всего общества в целом [Food, Agriculture, Conservation, and Trade Act of 1990 [FACTA].

В рамках Концепции устойчивого развития развивается целый ряд альтернативных, экологически безопасных систем землепользования. Среди них альтернативное сельское хозяйство, которое определяется как

система производства пищи и прядильных культур, применяющая методы управления и информации для снижения себестоимости продукции, улучшающая эффективность и поддерживающая уровень производства при использовании таких приемов как: севооборот культур; соответствующая интеграция растениеводства и животноводства; азотфиксирующие бобовые; интегрированная система защиты растений; щадящая обработка почвы; утилизация отходов животноводства для улучшения плодородия почвы; использование микробиологических удобрений [National Academy of Sciences USA, 1989].

Кроме того, все более популярной в мире становится органическая система земледелия, которая определяется как система сельскохозяйственного производства, исключая применение синтетических удобрений, пестицидов, регуляторов роста для растений и кормовых добавок для животных. Система органического сельского хозяйства основывается, главным образом, на чередовании культур в севообороте, использовании растительных остатков, отходов животноводства, бобовых культур, сидератов, механической обработке почвы для борьбы с сорняками, использовании биопрепаратов, контролирующих болезни и вредителей растений, с целью поддержки продуктивности почв для обеспечения растений элементами минерального питания и контроля численности вредителей, болезней и сорняков [Report and Recommendations on Organic Farming (Washington DC: USDA, 1980)].

В современных условиях функционирования отечественного земледелия при резком сокращении внесения минеральных и органических удобрений [Концепция, 2005] возрастает интерес к использованию в агротехнологиях дополнительных источников минерального питания растений. Это может быть достигнуто в результате применения биопрепаратов, изготовленных на основе активных штаммов микроорганизмов, обеспечивающих за счет фиксации азотом сельскохозяйственные растения, осуществляющих контроль развития патогенов, продуцирующих физиологически активные вещества [Биопрепараты....., 2005]. В результате улучшения жизни растений происходит увеличение урожайности сельскохозяйственных культур.

Среди биопрепаратов, достойное место занимает экстрасол (и его производные), эффективность использования которого посвящена настоящая книга.

Введение

Одним из приоритетных направлений развития человечества, как было определено на **Всемирном Саммите** в Йоханнесбурге в 2002 году, стала концепция **Устойчивого Развития**, формирование которой было вызвано серьезной обеспокоенностью состояния окружающей среды и перспективами развития цивилизации в условиях продолжающегося роста населения планеты. На Саммите было определено пять ключевых сфер, на которые должно быть обращено особое внимание: вода и канализация, энергетика, здравоохранение, сельское хозяйство, биоразнообразие. Агрэкосистемы в настоящее время занимают 30% всей земной поверхности и включают наиболее продуктивные почвы [Altieri,1991, Coleman, Hendrix,1988]. Поэтому эффективное управление агрэкосистемами является наиболее важным средством сохранения и улучшения нашей биосферы. Сельское хозяйство оказывает значительное влияние на окружающую среду. Негативный эффект сельского хозяйства заключается в том, что уменьшение почвенного плодородия приводит к водной и ветровой эрозии почв, потере органического вещества, водоудерживающей способности почв и их биологической активности. Сельское хозяйство является самым большим источником загрязнения воды, включая засоление, удобрения (нитратные, фосфорные), пестициды и органические удобрения. Низкое качество грунтовых вод оказывает значительное влияние на сельскохозяйственное производство, качество питьевой воды, производство рыбы. Другой серьезной экологической проблемой является то, что в настоящее время около 400 видов вредных насекомых и около 70 видов фитопатогенных грибов приобрели устойчивость к одному или нескольким видам пестицидов [Gold,1999]. Влияние сельского хозяйства на глобальные изменения климата только начинает изучаться.

Таким образом, возникает необходимость пересмотра современных подходов к землепользованию, развитию экологически безопасных агротехнологий, обеспечивающих устойчивое развитие сельского хозяйства.

В настоящее время в мире преобладает система интенсивного сельскохозяйственного производства, которую еще иногда называют

традиционной. Использование этой системы позволило промышленно развитым странам полностью обеспечить свою потребность в продуктах питания. Так, Мировой Банк оценивает, что от 70 до 90% увеличения сельскохозяйственного производства приходится на использование системы интенсивного с/х производства, нежели на увеличение площади возделываемых культур. У систем интенсивного с/х производства в каждой стране есть свои особенности, однако у нее есть и общие характеристики:

- быстрые технологические инновации
- большие капиталовложения для применения современных агротехнологий и методов управления
- крупные хозяйства для с/х производства
- профильная монокультура, выращиваемая в течение многих лет
- высокоурожайные гибриды
- интенсивное использование пестицидов, удобрений и энергоносителей
- высокая эффективность рабочей силы
- зависимость от агробизнеса

[Gold,1999]

Однако, в последнее время эта практика сельскохозяйственного производства пересматривается во многих развитых странах мира. В первую очередь, это связано с растущей озабоченностью потребителей, ученых-экологов, законодателей и сельхозпроизводителей о том, что современное с/х производство должно резко сократить применение пестицидов в с/х производстве. В связи с этим, получила развитие концепция «устойчивого сельского хозяйства». По закону принятому Конгрессом США устойчивое сельское хозяйство означает: интегрированную систему производства растительной и животной продукции, имеющую конкретное применение, которое в течение длительного времени позволит:

- удовлетворять потребности человека в пище и прядильных культурах
- обогащать качество окружающей среды и натуральных ресурсов, от которых зависит с/х экономика

- сделать наиболее эффективным использование невозобновляемых и внутрихозяйственных ресурсов, а также интегрировать, где это возможно, биологические циклы и контроли
- поддерживать экономическую жизнеспособность с/х производства
- улучшать качество жизни как сельхозпроизводителей, так и всего общества в целом

[Food, Agriculture, Conservation, and Trade Act of 1990 [ФАСТА]

В рамках концепции устойчивого развития развивается целый ряд альтернативных, экологически безопасных систем землепользования. Среди них альтернативное сельское хозяйство, которое определяется как система производства пищи и прядильных культур, применяющая методы управления и информации для снижения себестоимости продукции, улучшающая эффективность и поддерживающая уровень производства при использовании таких приемов как:

- севооборот культур
- соответствующая интеграция растениеводства и животноводства
- азотфиксирующие бобовые
- интегрированная система защиты растений
- щадящая обработка почвы
- утилизация отходов животноводства для улучшения плодородия почвы
- использование микробиологических удобрений

[National Academy of Sciences USA, 1989]

Кроме того, все более популярной в мире становится органическая система земледелия, которая определяется как система с/х производства, исключая применение синтетических удобрений, пестицидов, регуляторов роста для растений и кормовых добавок для животных. Система органического сельского хозяйства основывается главным образом на севооборотах культур, использовании растительных остатков, отходов животноводства, бобовых культур, сидератов, органических отходов, механической обработке почвы для борьбы с сорняками, использовании биопрепаратов, контролирующих болезни и

вредителей растений, с целью поддержки продуктивности почв для обеспечения растений элементами минерального питания и контроля вредителей, болезней и сорняков

[Report and Recommendations on Organic Farming (Washington DC: USDA, 1980)]

Таким образом, применение микробиологических препаратов и удобрений, обладающих широким спектром действия и полифункциональными свойствами, является необходимым элементом альтернативных, экологически безопасных, устойчивых систем сельского хозяйства.

1. Взаимодействие бактерий рода *Bacillus* с небобовыми растениями.

1.1. Типы взаимодействий, их классификация, выделение штаммов бацилл.

Почва является ключевым звеном, связывающим растительные и животные сообщества, что обеспечивает успешное развитие устойчивого сельского хозяйства [Pimental et al., 1992]. Почва является сложным сообществом почвенных организмов, связанных друг с другом многообразными отношениями. Поэтому необходимо поддерживать жизнеспособные разнообразные и функциональные микробные сообщества в почве. В настоящее время очень немного известно о взаимовыгодных отношениях между микробным разнообразием, функционированием почвы и качеством растений, что составляет в целом устойчивость природных экосистем [Kennedy, Smith, 1995]. Так, например, оценивается, что до настоящего времени только 13% или около 110 тысяч видов всех природных популяций были выделены и идентифицированы, тогда как все остальные представители микробиоты до сих пор неизвестны, так же как и их функции [Hawksworth, 1991].

Бактерии являются наиболее многочисленными представителями микроорганизмов в почве. Их численность составляет в среднем 600 миллионов клеток в грамме почвы или приблизительно 10 тысяч килограммов на гектар [Kilian et al., 2000]. Бактериальная масса составляет около 5% веса сухого органического вещества почвы. Естественно, число бактерий значительно зависит от сезона, типа почвы, содержания влаги и кислорода в почве, а также от способа

обработки почвы и внесения минеральных удобрений. Численность микроорганизмов, а также их биологическое разнообразие в значительной степени определяется технологией обработки почвы и внесения органических удобрений [Lynch,1983]. Почвенные микроорганизмы создают большой и динамичный источник элементов питания во всех экосистемах и играют главную роль в разложении растительных остатков и кругообороте питательных веществ [Cambardella,Elliott,1992, Collins et al.,1992, Smith,Paul, 1990], поддержании структуры почвы [Lynch,Bragg,1985], биологической азотфиксации [Sprent,1979], микоризных ассоциаций [Barea,1991], уменьшения числа фитопатогенов [Cook,Baker,1983] и других изменениях почвенных свойств, влияющих на рост растений.

Растительный организм можно рассматривать как сложную экосистему, в которой различные ниши заселены микроорганизмами. В зависимости от занимаемой экониши микрофлору, вступающую во взаимодействие с растениями подразделяют на ризосферную, эпифитную и эндофитную [Di Fiore, Del Gallo, 1995]. Ризосферные микроорганизмы – это группа почвенных микроорганизмов, обитающих в прикорневой зоне растений - ризосфере и ассоциированных с поверхностью корня – ризопланой [Lynch, 1990].

В самой ризосфере также выделяют ряд областей. Так, Линч [Lynch , 1990] предложил следующую классификацию ризосферы:

- 1) эндоризосфера - клеточные слои внутри корня,
- 2) ризоплана - внешняя поверхность корня,
- 3) экторизосфера - близлежащая зона почвы, окружающая корень,
- 4) спермосфера - трудно локализуемая область, находящаяся между ризосферой и зоной, окружающей прорастающие семена, из которой возможна миграция микроорганизмов на растущее растение, при заселении поверхности корней и листьев.

В ризосфере представлены все главные группы микроорганизмов: бактерии, актиномицеты, грибы, простейшие, водоросли, вирусы и некоторые макроорганизмы -нематоды, термиты и др. [Аристовская, 1975]. Это связано с тем,

что ризосфера представляет собой уникальную экологическую нишу, обеспечивающую питательными веществами почвенных обитателей. В формировании специфических условий ризосферы участвуют многие факторы, такие как вид растения, его физиологическое состояние, тип почвы, влажность, кислотность, аэрация и др.

По мере роста растения бактерии распространяются с его корней на надземные органы – стебли, листья, цветы, а с цветов на семена [Kluepfel, 1993]. Клюпфел и Тонкин [Kluepfel and Tonkyn, 1990] показали, что колонизация поверхности растения может осуществляться в результате воздушной трансмиссии (передачи) насекомыми. Пространство, окружающее надземную часть растения, принято называть филлосферой, а поверхность растения – филлопланой. Микроорганизмы, ассоциированные с филлосферой и филлопланой в современной литературе обозначают как эпифиты (от греч. ері-вокруг, phytos-растение).

Распределение микроорганизмов на поверхности растения носит зональный характер. Эпифиты обнаруживаются преимущественно вокруг устьиц. Так, было показано, что, в среднем, около каждого устьица хвои обнаруживается 5 микробных клеток. Остальная часть поверхности хвои остается практически не заселенной микроорганизмами [Мишустин, 1984]. Растительные выделения из устьиц являются основным питательным субстратом для эпифитных микроорганизмов и обуславливают микроразнообразие их распределения.

Эндифиты – это организмы, которые способны проникать и колонизировать внутренние ткани растения, не вызывая у них каких-либо симптомов заболевания [Wellington et al., 2001]. Бактериальными эндифитами называют бактерии, живущие в растительных тканях без нанесения вреда или получения выгоды большей, чем от места их обитания [Chen et al., 1995]. Эндифитные бактерии были выделены из цветов, листьев, стеблей, семян и корней многочисленных растений [Kobayashi, Palumbo, 2000].

Микроорганизмы, образующие ассоциации с растениями, являются представителями разных систематических групп. Краткий их перечень представлен в таблице 1.1.

Таблица 1.1. Биоразнообразие растительно-бактериальных ассоциаций и их физиологическая активность

Экологическая группа микроорганизмов	Микроорганизм ассоциированный с растением	Растение-хозяин	Физиологическая роль в растении	Литературная ссылка
	<i>Azotobacter paspali</i>	<i>Paspalum notatum</i>	азотфиксация	Dobereiner et al., 1972
Ризосферные бактерии	<i>Azospirillum brasilense</i>	злаковые травы	азотфиксация, синтез ИУК	James, 2000
	<i>Enterobacter agglomerans</i>	хлопчатник	синтез литических ферментов	Chernin et al., 1995
	<i>Pseudomonas spp.</i>	пшеница, томаты	синтез антибиотиков и ИУК	Fenton et al., 1992
	<i>Erwinia herbicola</i>	бобы, редис	синтез ИУК	Brandl,Lindow,1998
Эпифитные бактерии	<i>Pseudomonas auerofaciens</i>	с/х растения	повышение устойчивости к заморозкам	Wilson,Lindow,1993
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	редис	индукция системной устойчивости (ISR)	Raaijmaker et al.,1995
	<i>Azospirillum brasilense</i>	пшеница	азотфиксация, синтез ауксинов	James, 2000
Эндофитные бактерии	<i>Acetobacter diazotrophicus</i>	сахарный тростник	азотфиксация, синтез ИУК	Compant et al.,2005
	<i>Bacillus spp.</i>	луговые травы, злаки	азотфиксация, синтез фитогормонов и антибиотиков, индукция	Compant et al.,2005

		системной устойчивости	
<i>Herbaspirillum spp.</i>	сахарный тростник	азотфиксация	Triplett, 1996
<i>Pseudomonas spp.</i>	канадская ель	синтез антибиотиков	Shishido et al., 1999
<i>Serratia marcescens</i>	рис	азотфиксация	Gyaneshwar, 2001

Наиболее часто из образцов почвы выделяются представители родов *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Achromobacter*. Причем бациллы являются наиболее часто выделяемой из почв группой микроорганизмов, занимающей до 36% всей микробной популяции [Darbyshire, Greaves, 1973, Hallmann et al., 1998]. Эта величина значительно изменяется в зависимости от факторов окружающей среды, типа растительности, дозы применяемых удобрений и других факторов [Darbyshire, Greaves, 1973, Lynch, 1983, Mahaffee, Клоерпер, 1996]. Бактерии, продуцирующие биоконтрольные вещества достаточно часто выделяются из почвы. Так, Лейнс с соавторами [Leuys et al., 1990] и Ливенс с соавторами [Lievens et al., 1989] сообщали, что около 30% всех выделенных из почвы бактерий были способны продуцировать биоконтрольные вещества *in vitro*. Около 3% этих изолятов относились к роду *Bacillus*.

Ризосфера и ризоплана растений являются тем местом, где происходят сложные и многообразные растительно-бактериальные взаимодействия. Микроорганизмы ризосферы, способствующие росту и развитию растений, выделены в отдельную группу почвенных микроорганизмов - PGPR (от англ. plant growth-promoting rhizobacteria). Термин «PGPR» впервые предложил Клёппер с соавторами [Клоерпер et al., 1980] для обозначения почвенных бактерий, способных активно заселять ризосферу и ризоплану растений, используя питательные вещества, продуцируемые растениями в виде корневых экзометаболитов. Ризобактерии обладают способностью к быстрому росту, эффективно колонизируют корни растений и способны утилизировать корневые выделения растений. Ризобии, псевдомонады, бациллы и микоризные грибы являются наиболее известными колонизаторами ризосферы, которые способствуют росту растений [Schippers, 1992]. Однако их эффективность следует рассматривать как результат взаимодействия между растением, фитопатогеном, антагонистом и факторами окружающей среды [Schippers, 1992].

Микроорганизмы в ризосфере и ризоплане существуют за счет отмерших клеток эпидермиса и корневых волосков, а также за счет корневых экссудатов

растений, богатых сахарами и аминокислотами. Так, было показано, что до 20% энергии, ассимилированной растениями выделяется в виде корневых экссудатов [Martin,1971, Lynch,1983]. Корневые выделения стимулируют хемотаксис почвообитающих микроорганизмов. Экссудация корней происходит с самого начала роста растения и до конца жизни [Lugtenberg et al., 1999]. Состав корневых выделений зависит от возраста и стадии развития растения. Так, Кравченко [2000] установил такую зависимость для томатов. Он показал, что в корневых экссудатах 2-дневных проростков преобладают щавелевая, пировиноградная и молочная кислоты, а из сахаров - фруктоза и глюкоза. В то время, как у 14-дневных проростков увеличивалась концентрация лимонной, яблочной и молочной кислот, а также мальтозы. Для того, чтобы выяснить какие именно вещества, органические кислоты или сахара, предпочтительны для ризосферных микроорганизмов, Кравченко [2000] провёл эксперимент, в котором выращивал *Pseudomonas chlororaphis* и *Pseudomonas fluorescens* в жидкой среде с добавлением органических кислот или сахаров в качестве единственного источника углерода. Было отмечено, что при росте на органических кислотах скорость роста бактерий увеличивалась, уменьшалась лаг-фаза, а максимальная оптическая плотность была в 3.3 раза выше, чем при использовании сахаров. Таким образом, можно сделать вывод, что главным источником углерода для ризосферных бактерий (по крайней мере для бактерий р.*Pseudomonas*) являются органические кислоты.

Жагер с соавторами [Jaeger et al., 1999] показали, что разные участки корня различаются по составу экссудатов. При исследовании выделения сахарозы и триптофана корнями овса было обнаружено, что максимум секреции триптофана происходит на основании корня, постепенно снижаясь к его середине. В то же время, отмечалось максимальное выделение сахарозы на кончике корня и резкое снижение ее содержания уже на расстоянии 8 см от кончика корня. На основании этих данных можно сделать вывод, что и состав микробных сообществ в ризосфере будет неодинаков по всей длине корня [Chin-A-Woeng et al., 1997].

Фолман с соавторами [Folman et al., 2001] изучали состав микробных сообществ ризосферы огурца в зависимости от возраста растения и морфологии

корня. Было показано, что самые быстрорастущие микроорганизмы локализуются на кончике корня, а самые медленно растущие – у его основания. Кроме того, скорость потребления корневых выделений микроорганизмами была разной: наиболее интенсивное потребление наблюдалось на кончике корня и уменьшалось к его основанию.

Хотя штаммы *Bacillus subtilis* не считаются такими активными колонизаторами корней, как, например псевдомонады, тем не менее активная колонизация корней растений бациллами отмечалась целым рядом исследователей [Curl, Truelove, 1986, Leyns et al., 1990, Berger et al., 1996, Hallmann et al., 1998]. Подобно другим колонизаторам корней, штаммам *Bacillus subtilis* для активной колонизации и роста на поверхности корней необходимо наличие тонкой водяной пленки [Bowen, Rovira, 1976, Liddel, Parke, 1989]. Поэтому способность активно колонизировать корни растений и обладать при этом высокой конкурентной способностью является одним из критериев селекции бактерий антагонистов [Parke, 1991]. В процессе колонизации корней прорастающего семени растения, внесенные бактерии антагонисты вступают в конкурентные отношения с почвообитающими микроорганизмами как за места обитания на поверхности корня, имеющие сайты прикрепления, так и за источники питания. Очевидно, корни растений имеют ограниченную поверхность корней, пригодную для заселения бактериями-колонизаторами определенных видов [Handelsmann, Stabb, 1996].

Бактерия *Bacillus subtilis* издавна хорошо известна как сенная палочка и штаммы этих бактерий широко используются в практике для самых различных целей. Они достаточно широко распространены в почвах и ризосфере растений [Abdel Wahab, 1975, Nelson et al., 1976, Neal, Larson, 1976, Jordan et al., 1978].

В 80-х годах прошлого столетия рядом исследователей было показано, что во внутренних тканях большинства «здоровых» растений (хлопчатник, горох, картофель, томат, табак и др.) содержатся бактерии рода *Bacillus* [Менликиев и др., 1987]. По мнению авторов, массовое заселение растений этими бактериями происходит в фазе 4-5 настоящих листьев. Колонизация внутренних тканей

растений может происходить через корень, через устья и механические повреждения. По мере заселения и распространения их во внутренних тканях растений отмечалось снижение пораженности корней растений грибными болезнями (фузариозное увядание, вертициллезный вилт). За последние 10 лет эндофитные представители рода *Bacillus* выделены из стеблей и корней различных трав и деревьев [Rosado et al., 1998; Ryder et al., 1999]. Сообщалось о наличии бацилл в клубеньках бобовых растений. Так, Штурц с соавторами [Sturz et al., 1997] выделили 32 эндофитных штамма бактерий, включая 6 штаммов бацилл, 4 из которых были обнаружены внутри корневых клубеньков. В опытах по совместной инокуляции *Bacillus brevis* и *Bacillus insolutus* с *Rhizobium leguminosarium* отмечалось увеличение количества образовавшихся клубеньков. Эндофитные представители рода *Bacillus* были обнаружены также в семенах, в том числе в семенах бобовых растений. Например, Оэрли с соавторами [Oehrle et al., 2000] показали, что бациллы, колонизирующие семена сои оказывали негативное влияние на прорастание семян, а также ингибировали колонизацию *Bradyrhizobium japonicum* корней молодых проростков растений. В то же время, бациллы, выделенные из клубеньков, а не семян растений, оказывали стимулирующее воздействие на рост растений сои [Bai et al., 2003].

Среди ризобактерий, выделяемых из ризосферы различных небобовых растений часто представлены штаммы, относящиеся к родам *Bacillus* и *Paenibacillus* [Chanway, Nelson, 1990, Rennie, Larson, 1979, Rosado et al., 1998, Seldin et al., 1984, Seldin et al., 1998]. Новый род *Paenibacillus* был предложен сравнительно недавно на основании сравнительного анализа 16s РНК различных представителей рода *Bacillus* [Ash et al., 1991, Ash et al., 1993]. В настоящее время этот род насчитывает около 50 видов [Ding et al., 2005]. Типовым представителем рода *Paenibacillus* является *Paenibacillus polymyxa* (у рода *Bacillus* типовым представителем является *Bacillus subtilis*). В многочисленных опытах было показано, что штаммы *Paenibacillus polymyxa* активно колонизировали корни различных небобовых растений [Glick, 1995, Holl, Chanway, 1989,

Holl et al.,1988, Lindberg,Granhall,1984, Mavingui et al.,1992, Mavingui,Heulin, 1994, Rennie, Larson,1979, Shishido et al., 1995]. Также, было показано, что почва, на которой выращивались растения, могла оказывать влияние на популяцию изучаемого штамма бацилл [Seldin et al., 1998]. Штаммы *Paenibacillus polymyxa* обладали целым рядом хозяйственно-ценных свойств. Они были способны фиксировать молекулярный азот [Grau,Wilson,1962, Seldin et al.,1983], продуцировать фитогормоны [Holl et al., 1988, Lebuhn et al., 1997], продуцировать биоконтрольные вещества [Mavingui,Heulin, 1994, Piuri et al., 1998, Rosado, Seldin, 1993, Seldin et al., 1999, Walker et al., 1998].

Применение *Paenibacillus polymyxa* для обработки семян может иметь большое значение для увеличения урожайности с/х культур и снижения их заболеваемости. Однако, как показывают данные некоторых экспериментов, приживаемость интродуцируемых штаммов ризобактерий на корнях растений невысока [van Veen et al., 1997]. Более перспективным представляется использование штаммов ризобактерий, ранее выделенных из корней инокулируемых растений (растение-хозяин) [Chanway et al., 1988, Chanway et al., 1988a] или стимуляция нативной полезной микрофлоры, обитающей на корнях растений. Из ризосферы кукурузы на разных стадиях развития растений было выделено 67 штаммов, относящихся к *Paenibacillus polymyxa* [von der Weid et al., 2000]. На основании фенотипических и генетических данных было показано, что штаммы, выделенные из корней растений через 10,30,60 и 90 дней роста кукурузы, были статистически различными.

В Китае из ризосферы пшеницы, кукурузы и райграса было выделено 29 штаммов бактерий, относящихся к родам *Bacillus* и *Paenibacillus*, семь из которых были способны фиксировать азот атмосферы [Ding et al., 2005]. Из ризосферы кукурузы, выращиваемой на двух глинистых почвах в Бразилии было выделено 106 штаммов *Paenibacillus azotofixans* [Seldin et al., 1998]. Причем, при помощи молекулярных маркеров было показано, что штаммы, выделенные из ризопланы и ризосферы кукурузы, а также из почвы достоверно различались друг от друга,

Авторы считают, что разнообразие штаммов *Paenibacillus azotofixans* определяется типом почвы [Seldin et al., 1998].

На основании тщательного изучения 16 штаммов азотфиксирующих бацилл, выделенных из ризосферы кукурузы был предложен новый вид *Paenibacillus brasiliensis* [von der Weid et al., 2002].

Из ризосферы яровой пшеницы в Канаде было выделено 8 штаммов бацилл [Chanway, Nelson, 1988]. При изучении эффективности выделенных штаммов на растениях яровой пшеницы в вегетационных опытах на стерильном песке было показано, что 6 штаммов из 7 исследуемых способствовали улучшению роста корней пшеницы, а также увеличивали высоту растений. Однако не отмечалось влияния бактеризации на величину веса надземной массы растений [Chanway, Nelson, 1988].

Из почвы, ризосферы и ризопланы проростков пшеницы было выделено 130 штаммов *Bacillus polymyxa* [Mavingui et al., 1992]. При помощи фенотипических, морфологических, иммунологических и генотипических методов изучалось разнообразие выделенных изолятов. Кластерный анализ фенотипических свойств показал 93% сходства изучаемых штаммов. Штаммы бацилл, выделенные из различных мест обитания были объединены в различные группы, у которых сходство между изолятами составляло 96% [Mavingui et al., 1992].

Из ризосферной почвы ячменя было выделено 100 штаммов ризобактерий, из которых 16 изолятов обладали активностью против фитопатогенных грибов *in vitro* [Nielsen, Sorensen, 1997]. Отмечалось, что все эти изоляты в отличие от остальных, обладали глюканолитической и протеолитической активностью. Выделенные штаммы были идентифицированы как *Bacillus polymyxa* (2 штамма), *Bacillus pumilis* (13 штаммов), *Bacillus sp.* (1 штамм). Несмотря на различную продуктивность ферментов на разных питательных средах, изучаемые штаммы демонстрировали одинаковую биоконтрольную активность, что делает их перспективными кандидатами для создания биоконтрольных препаратов [Nielsen, Sorensen, 1997].

Из спермосферы гороха и бобов было выделено 92 изолята ризобактерий, из которых 72 были идентифицированы как представители рода *Bacillus* [Walker et al., 1998]. Четыре изолята бацилл демонстрировали антагонистическую активность бацилл *in vitro* против фитопатогенных грибов *Botrytis cinerea* и *Pythium mammilatum*. Идентификация этих штаммов показала, что один из них относится к *Bacillus polymyxa*, а три других к *Bacillus subtilis*. Было показано, что биоконтрольные вещества, продуцируемые бациллами были термостабильными и находились как в питательной среде, так и на оболочке спор [Walker et al., 1998].

Представители рода *Bacillus* характеризуются способностью образовывать высокоустойчивые эндоспоры [Sadof,1972] и продуцировать широкий спектр антибиотиков [Katz, Demain, 1977]. Многие виды бацилл и продуцируемые ими антибиотики обладают антагонистической активностью против фитопатогенных грибов [Edwards et al., 1994]. Как правило, эти бациллы населяют почву ризосферы растений [Zhang et al., 1993] или являются эндофитами [Mundt, Hinckle, 1976]. Способность бацилл образовывать эндоспоры, устойчивые к высушиванию, высокой температуре, ультрафиолетовому облучению, органическим растворителям является важной характеристикой для формулирования и коммерциализации биопрепаратов на их основе [Rhodes, 1990].

1.2. Механизм взаимодействия бацилл с небобовыми растениями, их хозяйственно-ценные свойства.

Интерес к практическому использованию микроорганизмов для увеличения урожая растений и накоплению азота в почве возник с самого начала развития микробиологии как науки. Уже в конце 19 века полезный эффект от применения клубеньковых бактерий при выращивании бобовых культур был хорошо известен и исследователей волновал вопрос, можно ли найти похожие системы у небобовых растений, составляющих подавляющее большинство культурных растений, с другими почвообитающими микроорганизмами. Первые работы по бактеризации семян небобовых растений бактериями родов *Bacillus* и *Azotobacter*

были начаты в конце 19, начале 20 века в России [Мишустин,1972]. Начиная с 1930 года, ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии рекомендовал для широкого применения микробиологические препараты на основе *Bacillus megaterium* и *Azotobacter chroococcum* [Мишустин, 1972, Мишустин, Наумова, 1962]. В середине 60-х годов прошлого столетия масштабы применения микробиологических препаратов в СССР достигали 35 млн.га [Cooper, 1959, Мишустин, Наумова, 1962]. Изучение результатов многочисленных полевых экспериментов, проведенных в СССР показали, что в среднем прибавка урожая зерновых культур составляла 10%, а урожай овощных культур увеличивался на 15-50%. В 60-70-х годах прошлого столетия аналогичные работы по широкомасштабному применению микробиологических удобрений на основе местных штаммов из родов *Pseudomonas* и *Beijerinckia* были начаты в Индии [Balasundaram,Sen,1971, Kavimandan,Gaur,1971, Lehri, Mehrorta, 1972, Nair et al.,1972]. Полученные данные, в целом подтверждали ростстимулирующий эффект микробиологических препаратов на различных с/х культурах, продемонстрированный ранее в СССР. На основании этих данных целый ряд исследовательских групп начал работы по изучению эффективности перспективных микробиологических удобрений на основе штаммов *Azotobacter chroococcum* [Brown et al., 1968, Brown.1974], *Azotobacter,Clostridium,Bacillus* [Rovira,1965, Ridge, Rovira,1968, Ridge,1970]. Результаты эффективности бактериализации семян с/х культур показали, что в условиях теплиц эффект ростстимуляции был значительно выше, чем в полевых условиях, что связывалась с приживаемостью нанесенных на семена бактериальных культур в полевых условиях. Несмотря на то, что штаммы для микробиологических препаратов выделялись из ризосферной почвы и из выделенных штаммов отбирались наиболее конкурентоспособные, тем не менее, при внесении бактериализованных семян в почву наблюдалась сильнейшая конкуренция между интродуцированными и почвообитающими штаммами микроорганизмов. Это объяснялось теорией микробного равновесия [Baker,Cook,1974], когда численность любого вносимого в

почву микроорганизма быстро снижалась до уровня других групп микроорганизмов в почве. Проблема заключалась также в том, что в те годы было невозможно отделить вносимый штамм микроорганизмов от представителей этого же вида или рода, существующих в почве [Rovira, Davey, 1974]. Поэтому все неудачи, связанные с практическим применением микробиологических препаратов объяснялись низкой приживаемостью интродуцированных штаммов на корнях и в ризосфере инокулированных растений, а также с отсутствием эффективных и адекватных технологий мониторинга вносимых штаммов микроорганизмов в окружающей среде. Прогресс в этой области был достигнут в 80-х годах прошлого столетия с использованием спонтанных рифампицинустойчивых мутантов псевдомонад, используемых в качестве микробных инокулянтов картофеля. В результате, было показано, что вносимые штаммы псевдомонад влияли на численность грибов и бактерий в ризосфере инокулированных растений и эффективно колонизировали поверхность корней картофеля в течение всего вегетационного периода [Kloepper, Schroth, 1981, Kloepper et al, 1980].

1.2.1. Колонизация корней и внутренних тканей растений

Колонизация растений – очень важный этап при образовании растительно-бактериальных ассоциаций. В ходе колонизации происходит размножение микроорганизмов на поверхности и внутренних тканях растения, формируются популяции и устанавливаются симбиотические или ассоциативные связи с растением. Хемотаксис (т.е. направленное движение бактерий по направлению к корневым экссудатам) можно рассматривать как первую составляющую процесса «узнавания» микроорганизмами растения. Он играет решающую роль в распространении бактерий вдоль растущего корня. Де Вегер с соавторами [De Weger et al., 1987] показали, что мутантные по подвижности штаммы *Pseudomonas fluorescens* WCS 374 хуже колонизируют корни картофеля по сравнению с диким типом и неспособны колонизировать корни при совместной

инокуляции мутантного и дикого штаммов, а отсутствие подвижности связано либо с нарушением биосинтеза флагеллина (основной структурный компонент жгутиков), либо с нарушением сборки флагеллиновых субъединиц. У штамма *P. fluorescens*, дефектного по гену *che A* (ответственен за хемотаксис) была нарушена способность к колонизации корней при совместной инокуляции мутантного и дикого типов [Lugtenberg et al., 2001].

Таким образом, можно сделать вывод, что именно хемотаксис (направленное движение), а не случайное перемещение играет главную роль в колонизации корней [Lugtenberg et al., 2001]

Колонизация является сложным многостадийным процессом, за который ответственно большое количество генов, как бактериальных, так и растительных. Условно этот процесс можно подразделить на несколько стадий: прикрепление к поверхности растения или семени; проникновение в ткани растения-хозяина; распространение внутри растительных тканей. Одним из основных этапов возникновения ассоциативных отношений бактерий с растением является процесс прикрепления бактерий к поверхности растения. Это сложный процесс, в котором принимают участие поверхностные структуры бактериальных и растительных клеток. Механизм межклеточной адгезии и молекулы, участвующие в ней, интенсивно исследуются в последние годы. Важную роль в этом процессе отводят различным компонентам клеточной поверхности бактерий [De Troch and Vanderleyden, 1996]. Согласно современным представлениям, образование ассоциативных сообществ включает функционирование молекул белковой природы – агглютининов (лектинов). Долгое время считали, что решающую роль в взаимоотношениях макро- и микропартнеров играют растительные лектины, а бактериальная клетка рассматривалась только в качестве носителя углеводных рецепторов [Линевич, 1979]. Первые исследования по обнаружению бактериальных лектинов касались бактерий из родов *Rhizobium*, *Klebsiella* и *Pseudomonas* и были связаны в основном с изучением лектинов, принадлежащих фимбриям (пилям), и их роли в процессе адгезии [Vesper, Bauer, 1986]. Работ же, касающихся нахождения

лектинов на поверхности ассоциативных бактерий и их биологической роли в растительно-бактериальных системах, было недостаточно, чтобы представить их значение в формировании ассоциаций, особенно на начальных этапах. Однако совсем недавно было обнаружено, что штаммы азотфиксирующих бактерий *Bacillus polymyxa* несут на поверхности растения агглютинирующие белки [Карпунина 2005]. Методом электронной электроскопии и иммуномечения коллоидным золотом было показано, что для бацилл характерно равномерное распределение лектинов по всей поверхности бактериальной клетки. Это являлось доказательством отсутствия связи с пилейными структурами клетки, и, судя по литературным данным, отличало эти соединения от большинства известных бактериальных агглютининов. Тем же методом электронной микроскопии было выявлено, что при контакте бацилл с поверхностью корня растения происходит перераспределение агглютининов бактериальной поверхности в сторону контакта. Карпунина [2005] сообщала, что найдены возможные рецепторы со стороны растения, с которыми связываются лектины бактерий. Этими рецепторами являются белки и углеводы. Способность лектинов бацилл взаимодействовать с растительными белками и углеводами приводит к образованию связей между растением-хозяином и микросимбионтом и тем самым определяет процесс адгезии бактерий на корневых волосках.

В исследовании бактериально-растительных ассоциаций к настоящему моменту все еще имеется достаточно много невыясненных моментов, касающихся вопросов проникновения бактерий в ткани растения. Большинство исследователей склоняется к ферментативной теории иннокуляционного процесса за счет гидролитических ферментов, продуцируемых бактериями или растениями [Карпунина, 2002]. Так, инкубирование клеток *Bacillus polymyxa* с корнями проростков пшеницы и дальнейший анализ с помощью световой микроскопии показал, что прикрепление клеток бацилл происходит по всей поверхности корня пшеницы, хотя в зоне корневого чехлика и нижней части зоны растяжения корня клеток было значительно меньше [Карпунина, 2002]. При наблюдении за распределением бацилл на поверхности корневого волоска

было замечено, что некоторые клетки бацилл прикреплялись к корневому волоску полярно, совершая при этом интенсивные вращательные движения. Проведенные электронно-микроскопические исследования взаимодействия бактерий *Bacillus poytuxa* с корнями пшеницы позволили обнаружить проникновение клеток бацилл внутрь корневых волосков. На кончике корневого волоска пшеницы происходило скопление бактериальных клеток, наблюдался тесный контакт бактериальной клетки с клеточной оболочкой корня растения, разрыхление клеточной стенки, проникновение бактерий внутрь корневого волоска и внутрь клеточной стенки корня.

Компант с соавторами [Comrant et al., 2004] наблюдали аналогичную картину разрушения клеточной стенки корней саженцев винограда при проникновении в них клеток *Burkholderia* sp. при их совместном культивировании. В месте проникновения бактерий происходило истончение клеточной стенки, связанное с её гидролизом. Бактерии проникали во внутренние ткани корня через эпидермальные и кортикальные клетки и, преодолев эндодерму, попадали в сосудистую систему корня. Это наблюдение подтвердило предположение о том, что бактериальные клетки гидролизуют клеточные барьеры с помощью особых энзимов (wall-degrading enzymes) – эндоглюканаз и эндополигалактуроназ.

Имеются данные, свидетельствующие о том, что в разрушении (гидролизе) клеточной стенки растений принимает участие гидролитические ферменты растений (протеиназа, β -глюкозидаза). Экспериментально установлено, что под влиянием лектинов бацилл происходила значительная активация растительной β -глюкозидазы. После инкубации корней проростков пшеницы с лектинами бактерий активность β -глюкозидазы возрастала в 5 раз [Карпунина, 2005].

Таким образом, можно предположить общую схему взаимодействия бактериальных агглютининов с растениями при проникновении во внутренние ткани. Данная схема предусматривает нахождение агглютинами специфических рецепторов углеводной и белковой природы, следствием чего

является прикрепление бактерий к поверхности корней растений и проникновение во внутренние ткани растения-хозяина.

Проникая в растение, бациллы не образуют специфические структуры, как это характерно, например для симбиотических diaзотрофов, и способны локализоваться предположительно в месте проникновения, либо распространяться по всем внутренним частям растения. Штурц с соавторами [Sturz et al., 1997] предположили, что источником эндофитных бацилл является ризосферная микрофлора, то есть многие почвенные бактерии, и бациллы в частности, могут проникать и колонизировать ткани корня, попадая в корневую ксилему. По сосудам они могут транспортироваться по всему телу растения, заселяя его. Сообщается также, что бациллы попадают во внутренние ткани через зародышевые корешки, корневые волоски или поврежденные стебли и листья [Di Fiore and Del Gallo, 1995]. Эти микроорганизмы могут локализоваться в клетках сосудистой системы растения и/или в межклеточном пространстве [Shishido et al, 1999].

Для изучения динамики колонизации эндофитными бациллами тканей растения-хозяина успешно применяют репортерные гены. При этом используется слияние собственных генов бацилл со специальными генами и последующий анализ экспрессии полученных химерных конструкций *in planta*. В качестве репортеров применяют гены β -глюкоронидазы (*gus A*), зеленого флюоресцентного белка (*gpf*) и его аналогов [Wilson et al., 1995, Bloemberg et al., 2000, Germaine et al., 2004]. Так, анализ индукции флюоресценции в клетках эндофитных бактерий тополя (*Populus trichocarpa*), содержащих в геноме *gpf*-кассету, показал, что большинство штаммов успешно колонизируют сосудистую систему корня и ствола, в листьях обнаружено лишь несколько штаммов.

Шишидо с соавторами [Shishido et al., 1999] исследовали колонизацию внутренних частей саженцев гибридной ели ризобактериальным штаммом *B. poyutuxa*. Используя метод флюоресцентно-меченых антител, они обнаружили бактериальные клетки внутри корней и стеблей спустя 5 месяцев после

инокуляции семян. Размер популяции составлял 10^4 - 10^6 КОЕ/грамм сырой массы растительной ткани.

1.2.2. Биологическая азотфиксация

Биологическая фиксация азота, осуществляемая почвенными бактериями, играет важную роль в жизни растений. Основной вклад в азотное питание растений, наряду с симбиотическими бактериями рода *Rhizobium*, согласно данным многих исследований, вносят ассоциативные diaзотрофы. Под ассоциативной азотфиксацией понимается азотфиксация, осуществляемая гетеротрофными бактериями на поверхности и в тканях высшего растения, без образования морфологически выраженной структуры при взаимном прижизненном обмене продуктами фиксации азота и углерода [Чумаков, 1988].

В число активных diaзотрофов входят *Bacillus polymyxa*, *Bacillus azotofixans*, *Bacillus macerans* [Witz et al., 1967]. Они широко распространены в почвах, находятся в прикорневой зоне злаковых растений и проникают во внутренние ткани растения. Все эти бациллы обнаружили способность фиксировать азот *in vitro* в ходе эксперимента с использованием ацетиленовой пробы (ARA, от англ. acetylene reduction assay), описанной Холлом с соавторами [Holl et al., 1988]. Имеются сведения, что *B. polymyxa* может преобладать в количественном соотношении над другими азотфиксирующими бактериями и фиксировать азот в анаэробных условиях интенсивнее других микроорганизмов [Карпунина, 2005].

При изучении механизмов стимуляции роста растений ассоциативными микросимбионтами из стволов и семян сосны и красного кедра были выделены эндофитные микроорганизмы, идентифицированные как аэробные спорообразующие бактерии [Bal and Chanway, 1999]. Было замечено, что каждое из деревьев успешно растет в условиях дефицита азота и отсутствия значимой азотфиксации в прикорневой зоне. Авторы предположили, что сосна и кедр могут компенсировать свои потребности в азоте за счет ассоциативной азотфиксации, осуществляемой эндофитными бактериями. Большинство

эндофитов, выделенных из деревьев, принадлежало к бациллам. Почти все из них росли на безазотной среде, однако ацетиленовая проба показала, что азотфиксирующих изолятов было только 4: два из них были идентифицированы как *Paenibacillus polytuxa*, два другие также принадлежали к роду *Paenibacillus* [Bal and Chanway, 1999]. Авторы делают вывод, что фиксация азота ассоциативными diaзотрофами (бациллами, в частности) может быть одним из главных механизмов стимуляции роста растения-хозяина.

1.2.3. Синтез фитогормонов и витаминов.

Большинство микроорганизмов способны синтезировать все важнейшие фитогормоны - ауксины (индолил-3-уксусная кислота ИУК), гибберелины, цитокинины, этилен и др., оказывая положительное влияние на рост растения [Frankenberger, Arshad, 1995].

К фитогормонам относятся б-замещенные пурины, выделяемые растениями и микроорганизмами [Певзнер, Мишке, 1979]. В настоящее время для определения активности фитогормонов используют метод биотестов с использованием растений табака, сои, редиса, огурцов и метод направленного мутагенеза.

Сабельникова [1976] показала, что при инокуляции семян люпина *Rhizobium lupini* концентрация ауксина в листьях, стеблях и корнях увеличивалась почти на 40%. Инокуляция увеличивала высоту растений с 21 см в контроле до 31,5 см при инокуляции.

С синтезом ИУК непосредственно связано накопление в растениях триптофана-предшественника ИУК. Ткани высших растений способны превращать эту аминокислоту в ауксины [Кафели, 1974]. Сабельникова [1976] показала, что в листьях, стеблях и корнях люпина, обработанного *Rhizobium lupini* накапливалось больше триптофана, чем в необработанном на 76.4, 71.4 и 20% соответственно..

Таблица 1.2. Разнообразие фитогормонов, синтезируемых ризобактериями

Штамм-продуцент	Фитогормон	Источник литературы
<i>Rhizobium lupini</i>	Ауксины (ИУК)	Сабельникова, 1976
<i>Azotobacter sp.</i> <i>Arthrobacter sp.</i>	Цитокинины	Тевелева и др., 1976
<i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Bacillus subtilis</i>	ИУК	Боронин, 1998
<i>Azospirillum sp.</i>	ИУК, гибберелины	Tien et al., 1979
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	ИУК	Чумаков, 2005

Исследовалось влияние ИУК, синтезированной *Pseudomonas fluorescens* на рост пшеницы [Боронин, 1998]. Было показано, что при инокуляции растения диким штаммом наблюдается стимуляция роста корневой системы на 65% по сравнению с контролем и на 71% по сравнению с растениями, обработанными мутантами, дефектными по синтезу фитогормона.

Чумаков [2005] установил способность *Agrobacterium radiobacter* синтезировать ИУК. При увеличении концентрации триптофана в среде на порядок, продукция ИУК также увеличивалась в 10 раз.

Многие микроорганизмы являются продуцентами витаминов. Растения способны синтезировать витамины сами и поглощать их извне. При дополнительном внесении витаминов в почву содержание их в растении увеличивается.

В опытах Шавловского [1979] тиамин, меченный S^3 и введённый в клетки бактерий, передавался проросткам пшеницы. Содержание витамина в растениях за 10 дней совместного культивирования увеличилось на 15-16%.

Смалий [1979] показал, что наиболее активными продуцентами биотина, тиамина, никотиновой и пантотеновой кислоты из числа бактерий ризосферы пшеницы являются бактерии рода *Pseudomonas*. В его опытах предпосевная обработка семян пшеницы штаммами *Pseudomonas* обеспечивала прибавку урожая

зерна на 6-18%.

Таблица 1.3. Разнообразие микроорганизмов, синтезирующих витамины

Штамм-продуцент	Витамин	Источник литературы
<i>Lactobacillus sp.</i>	Фолиевая кислота	Nurmikko et al., 1965
<i>Azospirillum spp.</i>	В- группа	Dahm et al., 1993
<i>Rhizobium spp.</i>	В- группа	Sierra et al., 1999
<i>Pseudomonas sp.</i>	Биотин, тиамин, никотиновая кислота	Смалий, 1979 Шиловский, 1979
<i>mycorrhizal fungi</i>	В- группа	Strzelczyk et al., 1991

Баи с соавторами [Bai et al., 2003] показали, что формирование клубеньков и последующая азотфиксация у сои ингибируется низкой температурой в прикорневой зоне. Температурный оптимум эффективного роста, развития и образования симбиоза с клубеньковыми бактериями составлял 25-30° С. Однако, в некоторых регионах с коротким посевным сезоном температура на глубине 10 см. не превышает 10°С в середине мая и 15°С в середине июня. Такие субоптимальные температуры в прикорневой зоне значительно тормозят прорастание растений сои и особенно формирование азтфиксирующего симбиоза с *Bradirhizobium japonicum*. Это может являться лимитирующим фактором урожайности сои в регионах с коротким летом. Оказалось, что инокуляция ризобактериальными штаммами может преодолеть этот негативный эффект. Из клубеньков сои были выделены 3 штамма бацилл, которые обладали ростстимулирующей активностью в отношении растения-хозяина [Bai et al., 2003]. Чтобы подтвердить их способность индуцировать образования клубеньков при низких температурах, проростки сои обрабатывали бациллами вместе с *B. japonicum* при температуре 15, 17 и 25°С, в лабораторных условиях, а также в полевых условиях в течение вегетационного сезона. В обоих экспериментах все три штамма эндофитных бацилл демонстрировали четкий положительный эффект. Внесение бактерий увеличивало количество и вес клубеньков, возросла сухая масса корней и стеблей, отмечалось увеличение содержания азота, общей биомассы и конечного урожая. Авторы предположили, что бациллы продуцируют

определенные активаторы и регуляторы роста, такие как ауксины, цитокинины, гибберелины, которые могут повлиять на развитие корневой системы и увеличить энергию прорастания растений.

Выделение фитогормонов бактериальными клетками в окружающую среду считается одним из важнейших составляющих эффективного растительно-бактериального симбиоза. Стимулирующий эффект выражается в том, что экзогенные фитогормоны вызывают усиленный рост корневой системы растения, что в свою очередь приводит к улучшению минерального питания (визуально это выражается в приросте биомассы, в частности, корневой системы.)

Анализ литературных данных свидетельствует о том, что ведущим фактором ростстимулирующего влияния бацилл является их способность продуцировать цитокинины [Тиммаск et al., 1999]. Цитокинины играют важную регуляторную роль в росте и развитии растения. Они ускоряют прорастание семян, способствуют формированию почек *de novo*, стимулируют прорастание листовой пластинки и развитие генеративных органов, затормаживают старение. Некоторые из этих эффектов наблюдались при инокуляции растений пшеницы бактерией *Bacillus polymyxa* [Тиммаск et al., 1999] Тиммаск с соавторами установили, что *Bacillus polymyxa* продуцирует цитокинины и цитокининподобные вещества, которые представляют собой вторичные метаболиты бактерий. Пик синтеза и выхода цитокинина во внешнюю среду приходится на стационарную фазу роста бацилл. Это справедливо не только для данных микроорганизмов, но и для широкого спектра ризобактерий, синтезирующих фитогормоны и биологически активные вещества.

При изучении взаимодействия микроорганизмов и высших растений Архиповой с соавторами [2001] был обнаружен штамм бацилл, способный производить в высоких концентрациях новую биологическую форму цитокининов в виде комплекса цитокинина с полисахаридом. Внесение бактериальной суспензии, содержащей цитокинины, на фоне оптимального

минерального питания увеличивало сырую и сухую массу побегов салата на 84 и 37% соответственно. Сырая и сухая масса корней возросла на 16 и 37% соответственно, увеличилась площадь листовой пластинки и содержание хлорофилла в листьях. Авторы сделали вывод, что в обработанных цитокининами растениях меньшая по размеру корневая система обеспечивает растения достаточным количеством воды и минерального питания. Возможная медленная диссоциация комплекса цитокинин-полисахарид обеспечивает пролонгированное и стимулирующее воздействие цитокининов на растение салата [Архипова и др., 2001].

Литературные данные свидетельствуют о том, что бациллы способны синтезировать индолил-3-уксусную кислоту. Холмецкая и Лобанок [2001] анализировали способность почвенных, эпифитных, эндофитных, а также фитопатогенных бактерий продуцировать ауксины. Было показано, что от 42% до 97% штаммов разных родов бактерий синтезировали фитогормон. Результаты исследований с разделением по интенсивности окрашивания культуральной жидкости реактивом Сальковского свидетельствовали о гетерогенности ИУК-синтезирующей активности у бактерий разных таксономических групп. Было отмечено, что штаммы бацилл обладают невысокой способностью продуцировать ИУК – около 10 мкг/мл – по сравнению с активными продуцентами (до 85 мкг/мл), к которым принадлежали в основном фитопатогены.

Ростстимулирующая активность некоторых штаммов бацилл объясняется продуцированием комплекса витаминов – тиамина, пиридоксина, пантотеновой кислоты, инозита, никотиновой кислоты [Смирнов и др., 1982]. Многие штаммы продуцировали витамин В-12 (50-60 мкг/мл), В-6 (2-5 мг/л), рибофлавин и менахинон (витамин К-12). Жу с соавторами [Zhu et al., 2005] выявили способность *Bacillus subtilis* синтезировать фолиевую кислоту (витамин В).

1.2.4. Биосинтез бациллами литических ферментов

В своих исследованиях Недорезков [2002] показал, что 20-40% бацилл, выделяемых из внутренних тканей растений, являются антагонистами наиболее часто встречающихся возбудителей болезней растений, таких как *Fusarium culmorum* (фузариоз колоса, корневые гнили), частота встречаемости которого составляет 85%; *Alternaria alternata* (чернь колоса, корневые гнили, торможение прорастания семян) – 95%; *Aspergillus nidulans* (плесневение семян, гибель проростков) – 55%, *Bipolaris sorokiniana* (обыкновенная корневая гниль) – 45%. Основными механизмами подавления жизнеспособности фитопатогенов являются биосинтез гидролитических ферментов, антибиотиков, токсинов и сидерофоров.

Bacillus subtilis – первый микроорганизм, у которого обнаружена способность лизировать не только собственные клетки, но и клетки других бактерий и грибов [Смирнов и др., 1982]. Литические ферменты бацилл представляют собой сложный комплекс, состоящий из ферментов с различной субстратной специфичностью. К таким ферментам относят протеазы, маннозы, целлюлазы, глюканазы, хитиназы. Прикрепляясь к грибным гифам, некоторые из них способны воздействовать на фитопатогены, вызывая лизис клеточной стенки и приводя к высвобождению содержимого гиф, которое служит дополнительным источником питания и энергии для бацилл. Нильсен и Соренсен [Nielsen, Sorensen, 1997] при изучении взаимодействия ассоциативных микроорганизмов с растением выделили изоляты бацилл, обладающих антагонистической активностью к широкому кругу фитопатогенов: *Aphanomyces cochleoides*, *Pythium ultimum* и *Rhizoctonia solani*. Отобранные штаммы были идентифицированы как *Bacillus polymyxa*, *Bacillus subtilis* и *Bacillus* spp. Все они продуцировали и выделяли во внешнюю среду гидролитические ферменты, лизирующие стенки фитопатогенных грибов (cell-wall-degrading enzymes). Штамм *B. polymyxa* был способен синтезировать экзохитиназы и ацетил-глюкозаминазу, разрушающие богатые хитином и ксиланами клеточные стенки *Rhizoctonia solani*. Штамм *Bacillus* sp. также подавлял жизнеспособность этого фитопатогена, однако для него была характерна эндохитиназная активность. Штаммы *Bacillus* sp. и *Bacillus pumilus* обнаружили способность продуцировать целлюлазы и гемицеллюлазы (ксиланазы и манназы), которые участвовали в деградации клеточных стенок

Aphanomyces cochleoides и *Pythium ultimum*, содержащих целлюлазу, галактоманназу и маннопротеины. Штаммы *Bacillus polymyxa* и *Bacillus pumilus* демонстрировали «средонезависимый» антагонизм по отношению к *Aphanomyces cochleoides* на четырех различных средах. Это проявлялось в постоянном продуцировании гидролитических ферментов (*B. polymyxa*), либо в индукции запаса ферментов, «подменяющих» друг друга в различных средах (*B. pumilus*). Таким образом, несмотря на различные стратегии в синтезе ферментов, бациллы демонстрировали множественный антагонизм в отношении фитопатогенных грибов.

Лима с соавторами [Lima et al., 2003] выявили ген *egl A*, кодирующий эндоглюканазу эндофита цитрусовых *Bacillus pumilus*. Продукт гена белок *Egl A* гидролизовал целлюлозу *in vitro*. Эндоглюканазы проявляли свою активность при pH=5-8,6 и t°C = 25-60°C. 85% активности сохранялось после инкубации в заданных условиях.

Антагонистические свойства бацилл, продуцирующих литические ферменты, могут быть обусловлены непосредственно их действием, либо действовать совместно с другими вторичными метаболитами – антибиотиками.

1.2.5. Продуцирование бациллами антибиотиков, сидерофоров и токсинов.

Антибиотики - специфические продукты жизнедеятельности организмов или их модификации, обладающие высокой физиологической активностью по отношению к определённым группам микроорганизмов (бактериям, грибам, водорослям, вирусам), задерживая их рост или полностью подавляя развитие [Егоров, Ландау, 1989]. По данным Воробейкова [1998] ежегодно описывается около 300 новых антибиотиков. Основные группы микроорганизмов-продуцентов антибиотиков представлены в таблице 1.4.

Антибиотики, выделяемые микроорганизмами, обладают способностью контролировать рост и развитие фитопатогенных микроорганизмов, возбудителей болезней культурных растений. Так, Веллер с соавторами [Weller et al., 2002] установили, что антибиотик диацетилфлороглюцинол (ДАФГ), продуцируемый

бактериями рода *Pseudomonas*, является главным антибиотиком при подавлении патогена пшеницы *Gaeummonomyces graminii*. В этом эксперименте исследовались почвы, на которых шло многолетнее непрерывное культивирование пшеницы и при этом не наблюдалось развитие заболеваний. Было установлено, что в бактериальной популяции в этой почве преобладали бактерии-продуценты ДАФГ, что приводило к формированию естественной устойчивости к фитопатогену.

Даффи и Дефаго [Duffy, Defago, 1999] показали, что максимальный уровень синтеза большинства антибиотиков приходится на начало стационарной фазы. Исключение составляет только ДАФГ. Этот факт объясняется тем, что одним из механизмов контроля биосинтеза антибиотиков является «чувство кворума» (quorum sense) - зависимость биосинтеза от плотности популяции.

Действие антибиотиков зависит от условий внешней среды. Чин-А-Вонг с соавторами [Chin-A-Woeng et al., 1997] показали, что активность феназин-1-карбоновой кислоты (ФКК), продуцируемой *Pseudomonas fluorescens* и феназин-1-карбоксамид (ФК), продуцируемой *Pseudomonas chlororaphis*, отличаются при разном значении pH среды. Было установлено, что ФКК теряет свою активность при pH выше 5.5, а ФК сохраняет свою активность в более широком диапазоне pH (до 8.3).

Таблица 1.4.. **Разнообразие антибиотиков, продуцируемых бактериями ризосферы**

Штамм-продуцент	Антибиотик	Источник литературы
<i>Pseudomonas fluorescens</i> MM-B16	Аэрудин	Lee et al., 2003
<i>Pseudomonas fluorescens</i> DR-54	Вискозинамид	Nielsen et al., 1998
<i>Pseudomonas fluorescens</i> F113	2,4-диацетил- флороглюцинол	Fenton et al., 1992
<i>Pseudomonas fluorescens</i> Pf-5	Пиолютеорин	Howell, Stipanovich, 1995
<i>Pseudomonas</i> <i>aureofaciens</i>	Феназин-1-карбоновая кислота	Pierson, Pierson, 1996

<i>Pseudomonas chlororaphis</i> PCL1391	Феназин-1-карбоксамид	Chin-A-Woeng et al., 1997
<i>Bacillus cereus</i>	Канозамин, цвиттермицин А	Milner et al., 1996 Silo-Sun et al., 1994

Среди эндофитных микроорганизмов наиболее активными продуцентами антибиотиков являются бациллы (табл. 1.5). Синтез пептидных антибиотиков у них приходится на начало стационарной стадии роста. Этот факт объясняется тем, что одним из механизмов контроля биосинтеза антибиотиков является зависимость биосинтеза от плотности популяции. Такой механизм контроля известен как «чувство кворума» и в настоящее время описан у многих микроорганизмов [Haas et al., 2002].

За последние годы у эндофитных бацилл было обнаружено около 30 новых антибиотиков, включая бактериоцины и нерибосомальные пептиды [Martin et al., 2003]. К последней группе принадлежат, в частности полимиксины. В 1954 году был описан штамм *Bacillus polymyxa* Ross, образующий полимиксин М [Смирнов и др., 1982]. Мартин с соавторами [Martin et al., 2003] обнаружили нерибосомальный антибиотик маттацин, выделенный из *Paenibacillus kobensis*. Оказалось, что маттацин идентичен полимиксину М по химической структуре и физиологической активности. Он способен ингибировать рост широкого круга грамотрицательных бактерий, включая патогенов растений. Бактерицидный эффект маттацина (полимиксина М) определяется способностью связываться и «обезвреживать» липополисахариды (ЛПС) – главный антиген наружной мембраны грамотрицательных бактерий.

Большинство идентифицированных антибиотиков, образуемых эндофитными бациллами, являются пептидами. Однако, анализ метаболитов, синтезируемых штаммами *Bacillus subtilis* и фенотипически близкими культурами, показал, что все они являются полиеновыми антибиотиками с 6 сопряженными двойными связями. Гексаены изученных штаммов подавляли рост фитопатогенных грибов *Fusarium culmorum*, *Fusarium oxysporum*, *Alternaria tenuis*, *Phytophthora infestans*. Степень подавления роста зависела от тест-гриба [Кудряшова и др., 2005].

Сило-Су с соавторами (Silo-Suh et al., 1994) изучали роль в подавлении жизнеспособности фитопатогена *Phytophthora medicaginis* двух антибиотиков штамма *Bacillus subtilis* UW 85. Оказалось, что синтезируемые этой бактерией активные метаболиты могут ингибировать рост патогена. Один из них, названный цвиттермицин А, представляет собой аминополиол; другой антибиотик В, по видимому является аминоглюкозидом и содержит дисахарид. Оба антибиотика предупреждают развитие болезни семян *Medicago sativa*, блокируя прорастание цист фитофторы. Впоследствии антибиотик В был идентифицирован как аминодиоксиглюкоза и назван канозамин [Milner et al., 1996]. Он эффективно ингибировал рост оомицетов и некоторых фитопатогенных бактерий.

Среди бацилл наиболее активными продуцентами антибиотиков являются штаммы *Bacillus subtilis*. Они продуцируют широкий круг антибактериальных и антифунгальных веществ как рибосомальной природы (субтилилин, субтилозин, тасА и субланцин), так не рибосомальной (хлоротетраин, микобациклин, ризатацин, бациллан, диффицидин, липопропротеиды сурфактин, итурин, фенгицин) [Koutmoussi et al., 2004]. Последние три липопропротеида являются циклическими пептидами, которые состоят из 7 аминокислот (сурфактины и итурины) или 10 аминокислот (фенгицины), связанных с одной уникальной жирной кислотой. Итурины и фенгицины обладают ярко выраженной антифунгальной активностью и ингибируют рост широкого круга фитопатогенов. Сурфактины сами по себе не обладают фунгицидной активностью, однако усиливают антифунгальный эффект итурина А [Koutmoussi et al., 2004]. Продукция сурфактинов приходится на конец экспоненциального роста, в то время как итурин и фенгицин синтезируются в течение стационарной фазы.

Дайлип Кумар [Dileep Kumar, 1998] изучал ростстимулирующую активность некоторых эндофитных бацилл. По данным автора, бактериализация семян *Cicer arietum* бактериями *Bacillus subtilis* AF-1 положительно влияла на рост растений, урожай и существенно снижала развитие болезни, вызванной фитопатогеном *Fusarium oxysporum*.

Таблица 1.5. Разнообразие антибиотиков, продуцируемых бациллами, угнетающими фитопатогенные грибы и бактерии

Штамм-продуцент	Антибиотик	Фитопатоген	Источник литературы
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FZB42	Сурфактин, фенгицин, бацилломицин D	Фитопатогенные грибы	Koumoutsi et al., 2003
<i>Bacillus cereus</i> UW85	Канозамин Цвиттермицин	Фитопатогенные оомицеты <i>Phytophthora medicaginis</i>	Milner et al., 1996 Silo-Suh et al., 1994
<i>Bacillus licheniformis</i> M4	Фунгицин M4	Фитопатогенные грибы	Lebbadi et al., 1994
<i>Bacillus megaterium</i>	нет названия	<i>Cryptonectia parasitica</i>	Groome et al., 1999
<i>Bacillus pumilus</i> CL45	Непептидный антибиотик	<i>Alternaria brassicicola</i>	Leifert et al., 1995
<i>Bacillus subtilis</i> 168	Субланцин 168	Грам «+» бактерии	Koumoutsi et al., 2003
<i>Bacillus subtilis</i> 6051	Сурфактин	<i>Pseudomonas syringae</i> pv <i>tomato</i> DC300	Koumoutsi et al., 2003
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC6633	Микосубтилин, сурфактин, ризоктицин А, субтилин	<i>Rhizoctonia solani</i>	Duitman et al., 1999
<i>Bacillus subtilis</i> BBG100	Микосубтилин	<i>Phytium aphanidermatum</i>	Duitman et al., 1999
<i>Bacillus subtilis</i> CL27	Пептидный антибиотик	<i>Alternaria brassicicola</i> , <i>Bothrytis cinerea</i>	Leifert et al., 1995
<i>Bacillus</i> sp	Не определен	<i>Fusarium</i> sp	Schisler et al., 2004
<i>Paenibacillus kobensis</i> M	Маттацин (полимиксин M)	Грам «-» бактерии	Martin et al, 2003

Подавление жизнедеятельности фитопатогена и связанная с этим стимуляция роста растения объясняется способностью штамма продуцировать антибиотические вещества.

Несколько штаммов *Bacillus subtilis* и *Bacillus cereus*, известные как YIB (yield-increasing bacteria), способны стимулировать рост зерновых культур непосредственно, продуцируя фитогормоны *in vitro*, а также опосредованно за счет угнетения роста и размножения основных растительных фитопатогенов – *Fusarium spp.*, *Gaeumannomyces graminis var. tritici*, *Rhizoctonia solani* [Ryder et al., 1999]. Инокуляция пятью изучаемыми изолятами бацилл значительно снижала пораженность растений фитопатогенными грибами. Все пять штаммов, которые эффективно ингибировали развитие фитопатогенов, стимулировали рост пораженных семян. Авторы считают, что к числу вероятных механизмов стимуляции роста растений относятся продуцирование растворимых в воде антифунгальных веществ, летучих соединений, но не HCN, а также синтез сидерофоров. Сидерофоры – низкомолекулярные органические молекулы, обладающие высоким сродством к Fe^{3+} . В условиях дефицита железа бактерии и грибы вырабатывают сидерофоры, однако бактериальные сидерофоры обладают большим сродством к Fe^{3+} , чем грибные, вследствие чего возникает жесткая конкуренция за ионы железа.

1.6. Штамм *Bacillus subtilis* Ч-13 продуцент микробиологического препарата Экстрасол.

Одной из последних разработок Всероссийского НИИ сельскохозяйственной микробиологии, востребованной сельхозпроизводителями стал микробиологический препарат Экстрасол, который получил государственную регистрацию в качестве микробиологического удобрения в 1999 г. Это результат работы института за последние годы при использовании самых современных методов биотехнологии и микробиологии. Российским ученым удалось совместить в этом препарате лучшие качества биологических и химических препаратов и создать уникальный продукт (Chebotar et al., 2000, Кожемяков, Чеботарь, 2005).

Основу Экстрасола составляет штамм ризосферных бактерий *Bacillus subtilis* Ч-13, выделенный из черноземной почвы Республики Молдова. Российские ученые после тщательного изучения и отбора смогли отобрать бактерию, которая обладает комплексом полезных свойств. Это – способность синтезировать в процессе своего роста вещества, подавляющие развитие фитопатогенных грибов и бактерий, являющихся возбудителями болезней растений. Кроме того, штамм *Bacillus subtilis* Ч-13 синтезирует вещества, стимулирующие рост растений. За счет активной колонизации корней растений полезные бактерии улучшают развитие корневых волосков и их поглотительную способность. Таким образом, питательные элементы – азот, фосфор и калий эффективнее усваиваются растениями из почвы и удобрений. Это позволяет на 30-40% снижать дозу удобрений и получать такой же урожай или даже выше. Штамм *Bacillus subtilis* Ч-13– продуцент Экстрасола, поселяясь на корнях растений, усиливает их иммунитет и устойчивость к стрессам, таким как заморозки и засуха.

Штамм характеризуется следующими морфолого-культуральными и физиолого-биохимическими признаками.

Клетки имеют форму правильных палочек с закругленными концами и монополярным перитрихальным расположением жгутиков. Размер клеток 1.0x2.0 мкм. Штамм образует споры, расположенные в центре клетки, положительно окрашивается по Граму. Через 24 часа роста на жидкой питательной среде наблюдалось накопление поли-β-оксибутирата. Рост в жидкой и полужидкой питательной среде микроаэрофильный, метаболизм дыхательный и бродильный. На мясо-пептонном агаре штамм образовывал сухие колонии кремового цвета, пастообразной консистенции с неровными изрезанными краями. Диаметр колоний 20-40 мм. Оптимальная температура для роста составляла 37⁰С. При температуре более 45⁰С и менее 15⁰С рост был замедленный. Оптимальное значение рН среды составляло 6.8, рост происходил также в диапазоне рН от 4.5 до 8.0

Штамм *Bacillus subtilis* Ч-13 гидролизует казеин, желатину, крахмал и лакмусовое молоко. Лакмус при этом обесцвечивался. Штамм обладал сильной каталазной активностью и не обладал липазной активностью. Штамм способен расти при 40С, 7% NaCl и 0.001% лизоцима. В качестве единственного источника углерода штамм использовал с образованием кислоты арабинозу, ксилозу, маннит, глюкозу, галактозу, фруктозу, мальтозу, сорбит, глицерин, декстрин, крахмал и с образованием щелочи рамнозу и дульцит.

В таблицах 1.6. и 1.7. представлены результаты антагонистической активности *Bacillus subtilis* Ч-13 (продуцент биопрепарата Экстрасол) по отношению к фитопатогенным бактериям и грибам. Очевидно, что штамм Ч-13 обладает широким спектром действия против различных фитопатогенных микроорганизмов, возбудителей болезней растений. Зоны ингибирования их роста составляли 23.8-49.5 мм. Эффективность Экстрасола, используемого в качестве протравителя семян была показана в полевых опытах с яровой пшеницей в Татарстане (Табл. 1.8.). Так, при обработке семян яровой пшеницы протравителями семян Экстрасол показал такую же биологическую эффективность как химические препараты Колфуго дуплет, Феразим, Премис 200, но по цене он был в 4-6 раз меньше.

Таблица 1.6. Антагонистическая активность *Bacillus subtilis* Ч-13 продуцента биопрепарата Экстрасол по отношению к фитопатогенным бактериям.

Штамм	Зона ингибирования роста, мм				
	<i>Erwinia carotovora</i> A-1	<i>Pseudomonas syringiae</i> 8300	<i>Pseudomonas syringiae</i> 2314	<i>Erwinia carotovora</i> a 3391	<i>Clavibacter michiganense</i> 17-1
<i>Bacillus subtilis</i> Ч-13	28.4±2.0	32.0±2.6	48.0±3.3	49.5±4.1	36.0±2.7

Таблица 1.7. Антагонистическая активность *Bacillus subtilis* Ч-13 продуцента биопрепарата Экстрасол по отношению к фитопатогенным грибам.

	Зона ингибирования роста, мм

Штамм	<i>Phytophthora capsici</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Fusarium culmorum</i>	<i>Fusarium solani</i>	<i>Pythium spp.</i>
<i>Bacillus subtilis</i> Ч-13	48.1±3.2	29.6±1.9	33.0±2.4	23.8±1.9	38.1±2.9

Таблица 1.8. Биологическая эффективность различных препаратов, (химических – Х и биологических - Б), используемых в качестве протравителей семян пшеницы.

Препараты (протравитель)	Доза препарата л/т, кг/т	Корневые гнили		Биологическая эффективность
		% распростра- нения	% развития	
Контроль	-	43,5	10,9	-
Премис 200 (Х)	0.2	4.9	1.2	89.0
Феразим (Х)	1.2	8.3	2.1	80.7
Колфуго дуплет (Х)	2.5	10	2.5	77.1
Экстрасол (Б) (<i>Bacillus subtilis</i> Ч-13)	1	9,1	2,3	78,9
Фитоспорин (Б) (<i>Bacillus subtilis</i> ВНИИСХМ 128)	0,5	15	3,7	66,1
Планриз (Б) (<i>Pseudomonas fluorescens</i> AP-33)	0,5	17	4,2	61,5

Патогенность штамма *Bacillus subtilis* Ч-13 изучали на двух видах лабораторных животных (белые мыши и белые крысы) при однократном внутрибрюшинном и внутрижелудочном введении штамма (Табл.1.9.). Гибели животных и клинических симптомов заражения в период наблюдения не отмечалось, в результате чего ЛД₅₀ составила для белых мышей и белых крыс при внутрибрюшинном заражении более 10⁹ микробных клеток, при внутрижелудочном более 10¹⁰ микробных клеток/животное. Анализ результатов, суммированных в таблице 1.9. позволяет заключить, что в соответствии с «Методическими указаниями Минздрава СССР» №2620-82 и №4263-87 штамм *Bacillus subtilis* Ч-13 является невирулентным, нетоксичным

и нетоксигенным, что характеризует его как непатогенный для теплокровных животных и его следует отнести к четвертому классу опасности.

Было проведено изучение антифунгальных и фитостимулирующих свойств штамма *Bacillus subtilis* Ч-13, которое включало в себя ряд этапов:

1. Определение антифунгальной активности живой культуры и культуральной жидкости штамма Ч-13 при росте на картофельной среде;
2. Анализ этилацетатного экстракта культуральной жидкости штамма Ч-13 методом высокоэффективной жидкостной хроматографии высокого давления (HPLC) для выявления наличия метаболитов, продуцируемых бактериями в процессе культивирования, а также определение суммарной антифунгальной активности экстракта;
3. Сбор индивидуальных фракций, выявленных в ходе хроматографического анализа, и оценка их антифунгальной активности;
4. Анализ продукции штаммом Ч-13 фитогормонов - производных ауксина методом HPLC;
5. Тестирование фитостимулирующей активности штамма Ч-13 с использованием биотестов на кресс-салате и хлорелле.

1.6.1. Антифунгальные свойства *Bacillus subtilis* Ч-13.

Анализ антифунгальной активности *Bacillus subtilis* Ч-13 показал, что максимальная ингибирующая активность по отношению к фитопатогенному грибу *Fusarium graminearum* отмечается у живой бактериальной культуры (табл.1.10). Культуральная жидкость после отделения бактериальных клеток имела активность, в 2.5 раза более низкую, чем живая культура, а антифунгальная активность суммарной фракции метаболитов, экстрагированных из культуральной жидкости, была в 2 раза менее активной, чем живая культура (табл. 1.10). Можно предположить, что в суммарную антагонистическую активность *Bacillus subtilis* Ч-13 вносят свой вклад дополнительные факторы, например продуцируемые экзоферменты.

Таблица 1.9. Результаты токсикологической оценки штамма *Bacillus subtilis* Ч-13

№ п/п	Показатель патогенности	Вид животного	Метод введения штамма	Значение LD ₅₀ (кл/животное, мл/животное)	Группа вирулентности, токсичности, токсигенности
1	Вирулентность	Белые мыши	Внутрибрюшинно	Более 10 ⁹	Невирулентный
		Белые мыши	Внутрижелудочно	Более 10 ¹⁰	Невирулентный
		Белые крысы	Внутрибрюшинно	Более 10 ⁹ кл	Невирулентный
		Белые крысы	Внутрижелудочно	Более 10 ¹⁰ кл	Невирулентный
2	Токсичность	Белые мыши	Внутрибрюшинно	Более 10 ⁹ кл	Нетоксичный
3	Токсигенность				
3а	Токсигенность фильтрата 3-х суточной бульонной культуры	Белые мыши	Внутрибрюшинно	Более 1.0 мл	Нетоксигенный
		Белые мыши	Внутрижелудочно	Более 2.0 мл	Нетоксигенный
3б	Токсигенность фильтрата 7-и суточной бульонной культуры	Белые мыши	Внутрибрюшинно	Более 1.0 мл	Нетоксигенный
		Белые мыши	Внутрижелудочно	Более 2.0 мл	Нетоксигенный

Хроматографический анализ полученного этилацетатного экстракта культуральной жидкости показал наличие группы интенсивных пиков с временем выхода 36 – 46 мин, а также ряд менее интенсивных пиков с различным временем удержания (рис. 1.1). При этом следует отметить, что большая их часть имела активное поглощение не только при длине волны 220 нм, но и при длине волны УФ-детектора 280 нм, что является характерным для сложных молекул, содержащих фенольные кольца и гетероциклические группы. Наибольшую интенсивность при 280 нм имело соединение, соответствующее пику 41.81 (42.00) мин. (сравн. рис. 1.1 и 1.2).

Наиболее интенсивные индивидуальные пики с временами выхода 36.63 мин, 38.82 мин, 41.81 мин, 45.20 мин, 46.91 мин и 50.99 мин, а также фракции пиков в областях 5-10 мин и 29.55-35.84 мин (см. рис. 1.1) были собраны для дальнейшего анализа на антифунгальную активность. В результате, четкая антифунгальная активность была выявлена у пика с временем выхода 41.81 мин (табл. 1.11). Интересно, что вещество, соответствующее данному пику, наиболее интенсивному на хроматограмме с длиной волны 280 нм (рис. 1Б), имело в растворе метанола желто-зеленое пигментирование. Компоненты с временем выхода 36.63 мин и 38.82 мин имели очень слабую, нечеткую активность, а все остальные фракции были неактивны (табл. 1.11).

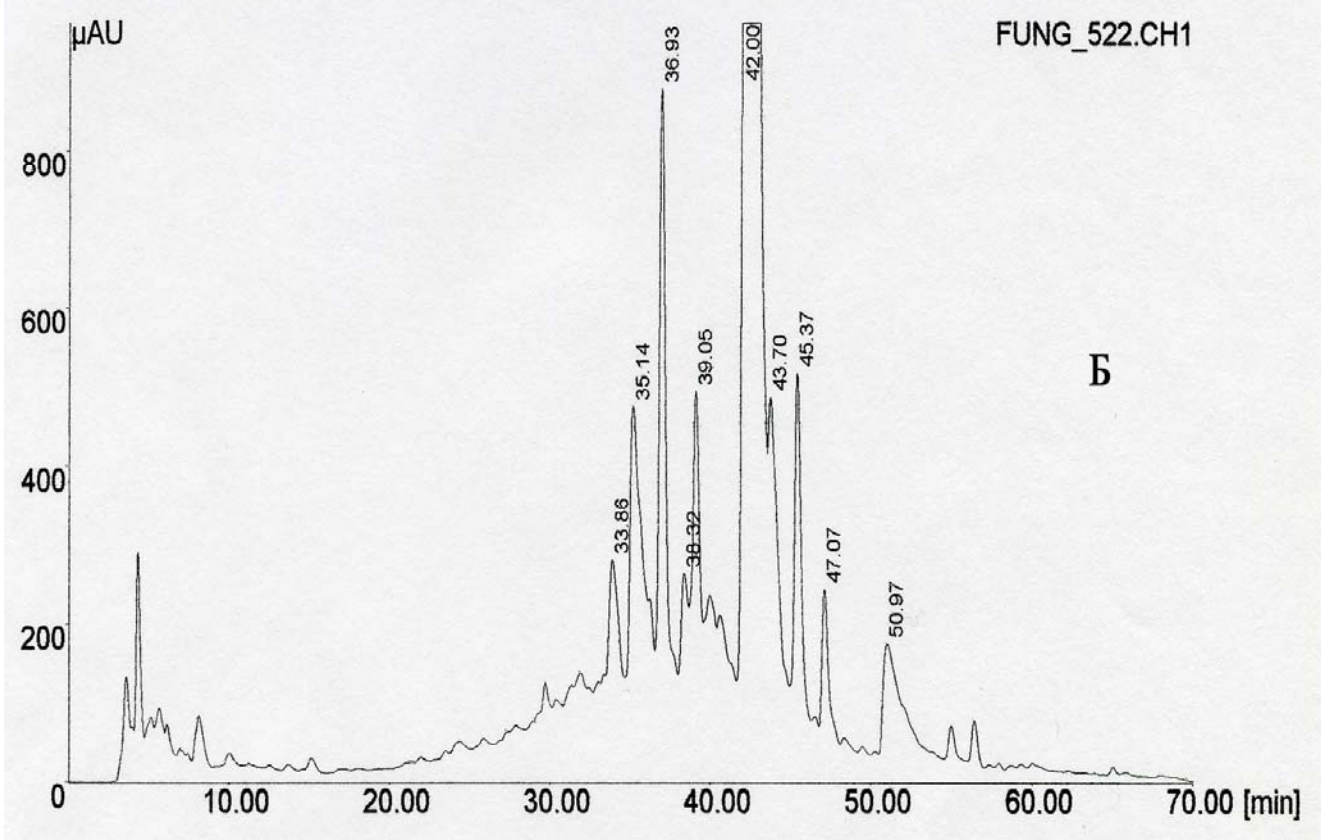
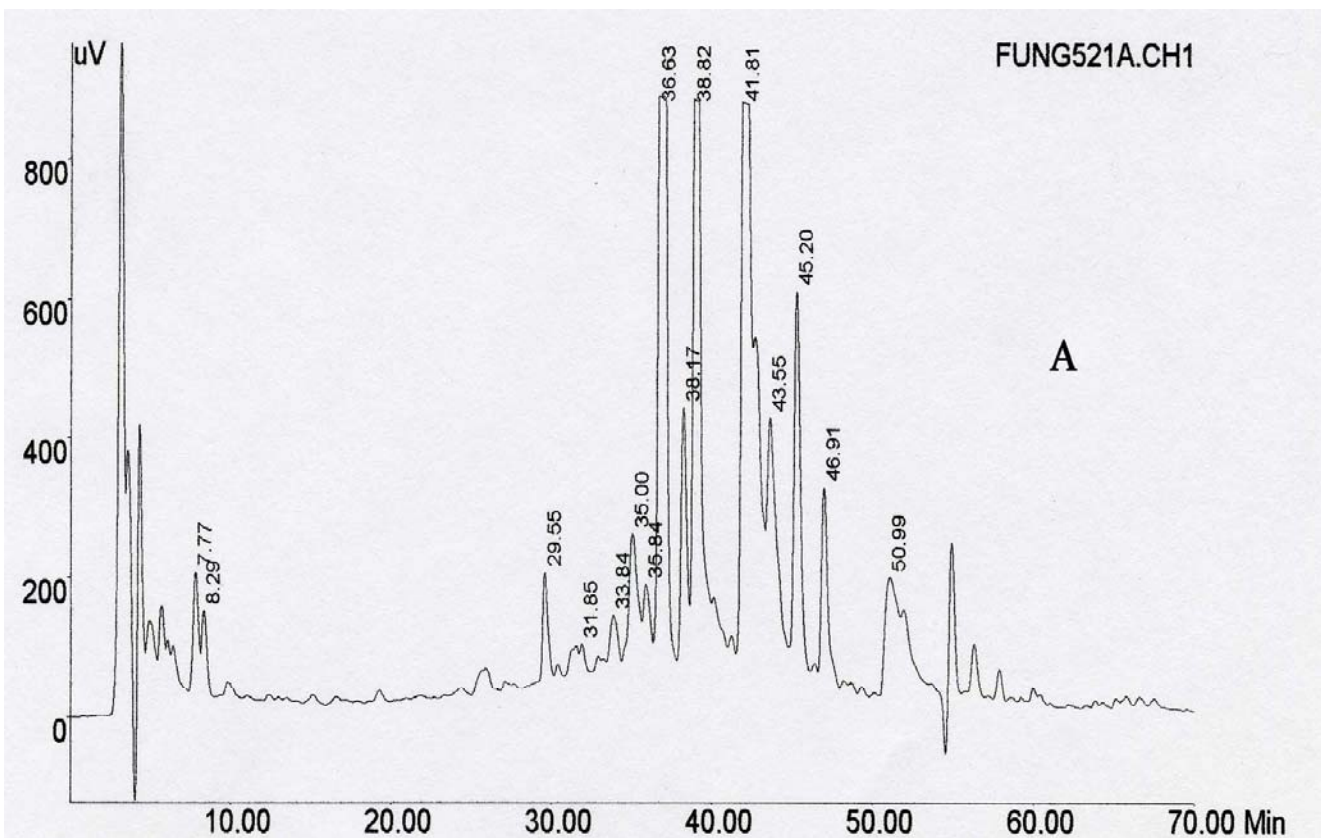


Рис. 1.1. HPLC анализ этилацетатного экстракта культуральной жидкости штамма *Bacillus subtilis* Ч-13 после выращивания стационарно на картофельной среде при 28⁰С в течение 4 суток.

А – длина волны УФ-детектора 220 нм;

Б – длина волны УФ-детектора 280 нм.

Таблица 1. 10. Антифунгальная активность штамма *Bacillus subtilis* 4-13 против гриба *Fusarium graminearum*

Вариант	Разведение	Диаметр зоны ингибирования гриба, мм ¹	Примечание
живая культура	нет	31	-
культуральная жидкость	нет	12.5	зона слабая
экстракт ²	1:10	14	зоны более активные, чем в варианте с культуральной жидкостью
экстракт	1:100	15	
экстракт	1:1000	15	

¹ Антифунгальную активность ризобактерий определяли методом лунок на чашках с агаризованной картофельной средой (PDA). Бактерии культивировали стационарно 4 суток на жидкой картофельной среде. Культуральную жидкость (100 мкл) вносили в 8-и мм лунки. После инкубации в течение 2 - 4 суток величину антифунгальной активности определял по диаметру прозрачных зон вокруг лунок.

^{2.} Концентрированный (350 мкл) этилацетатный экстракт из 300 мл культуральной жидкости (100 мкл).

Таблица 1.11. Антифунгальная активность индивидуальных компонентов хроматографической пробы этилацетатного экстракта культуральной жидкости *Bacillus subtilis* Ч-13 против гриба *Fusarium graminearum*

Время выхода хроматографического пика, мин ¹	Диаметр зоны ингибирования, мм
фракция 5-10 мин	0
фракция 29.55-35.84 мин	0
36.63	±2
38.82	±
41.81	10
45.20	0
46.91	0
50.99	0

¹ собранные при HPLC анализе фракции наносили на круги фильтровальной бумаги диаметром 5 мм, которые помещали на поверхность агаризованной картофельной среды (PDA), содержащей споры гриба в количестве 10⁶ спор/мл. После инкубации в течение 1 - 2 суток величину антифунгальной активности определяли по диаметру прозрачных зон вокруг бумажек. Время выхода анализируемых фракций соответствует хроматограмме на рис. 1А.

^{2.} очень слабая, нестабильная активность.

1.6.2. Фитостимулирующие свойства штамма *Bacillus subtilis* Ч-13.

Продуцирование ауксинов:

Результаты HPLC анализа ауксинов в культуральной жидкости *Bacillus subtilis* Ч-13 представлены на рис. 1.2 и 1.3, а также в таблице 1.12.

Анализ показал наличие продукции данным штаммом четырех ауксинов: индолил-3-молочной кислоты (ИМК), индолил-3-карбоновой кислоты (ИКК), индолил-альдегида (ИАлд) и индолил-3-уксусной кислоты (ИУК). Наиболее интенсивно продуцируются ИАлд (7.19 мкг/мл) и ИМК (2.87 мкг/мл). Суммарная степень конверсии метаболического предшественника ауксинов – L-триптофана – в обнаруженные производные достигает 80% (табл. 1.12).

Согласно ранее полученным данным [Кравченко с соавт., 2002], степень конверсии L-триптофана в ИУК штаммами ризобактерий *Pseudomonas chlororaphis* SPB1217 и *Pseudomonas fluorescens* SPB2137 в аналогичных условиях составляла 17-19%, причем у этих штаммов не обнаруживались заметные количества остальных производных, а содержание ИУК составляло 0.96-1.88 мкг/мл. Таким образом, штамм *Bacillus subtilis* Ч-13 значительно более активно продуцирует не основной фитогормон, определяющий фитостимуляцию – ИУК, а его производные.

Биотест на кресс-салате:

Эффекта стимуляции при использовании данного биотеста не отмечалось, а при концентрации бактерий выше 10^7 КОЕ/мл наблюдался эффект ингибирования развития проростков кресс-салата (табл. 1.13).

Биотест на хлорелле (*Chlorella vulgaris* st. 157):

В биотесте с хлореллой стимулирующая активность отмечалась в контроле (стерильная среда) и в варианте с живой культурой *Bacillus subtilis* Ч-13 (табл. 1.14). В данном варианте зоны стимулирования, особенно при титре бактерий 5×10^7 и 5×10^6 КОЕ/мл были сильнее, чем в контрольном варианте (табл. 1.14).

Однако, в этих вариантах стимулирующий эффект был достаточно низким, так как интенсивность окрашивания зон была слабой. В вариантах со стерильной культуральной жидкостью и этилацетатным экстрактом антифунгальных метаболитов стимуляция не наблюдалась.

Вещества, определяющие обнаруженную слабую ростстимулирующую активность на хлорелле, не являются ауксинами и цитокининами. Согласно ранее полученным результатам, ИУК и зеатин в концентрациях от 20 до 10^{-3} мкг/мл не стимулируют рост хлореллы.

Таблица 1.12. Продуцирование ауксинов штаммом *Bacillus subtilis* Ч-13.

Ауксин	Содержание в культуральной жидкости, мкг/мл ¹	Степень конверсии L-триптофана, % ²
индолил-3-молочная кислота	2.87	19.9
индолил-3-карбоновая кислота	0.86	6.0
индолил-альдегид	7.19	49.9
индолил-3-уксусная кислота	0.91	6.3
суммарное содержание ауксинов	11.83	82.1

^{1.} расчет концентраций проводился по результатам HPLC анализа при использовании УФ-детектора для определения индолил-3-карбоновой кислоты и индолил-альдегида, и при использовании флуоресцентного детектора для индолил-3-молочной кислоты и индолил-3-уксусной кислоты.

^{2.} суммарное содержание L-триптофана в среде с учетом дрожжевого экстракта 14.4 мкг/мл.

Таблица 1.13. Фитостимулирующая активность *Bacillus subtilis* Ч-13 в биотесте с кресс-салатом.

Численность бактерий, КОЕ/мл	Длина проростков кресс-салата, % к контролю	
	корень	стебель
5.5×10^7	61.7	88.6
5.5×10^6	91.3	101.8
5.5×10^5	98.5	101.1
5.5×10^4	102.7	99.1

Таблица 1.14. Фитостимулирующая активность *Bacillus subtilis* Ч-13 в биотесте с хлореллой.

Вариант	Зона стимулирования роста хлореллы (мм) при титре бактерий КОЕ/мл			
	5.5×10^7	5.5×10^6	5.5×10^5	5.5×10^4
контроль ¹	15	23	26	26
живая культура ²	34	30	30	28
культуральная жидкость	0	0	0	0
экстракт ³	-	0	0	0

¹. Стерильная картофельная среда.

². Исходный титр бактерий – 5.5×10^7 КОЕ/мл.

³. Концентрированный (350 мкл) этилацетатный экстракт из 300 мл культуральной жидкости (50 мкл).

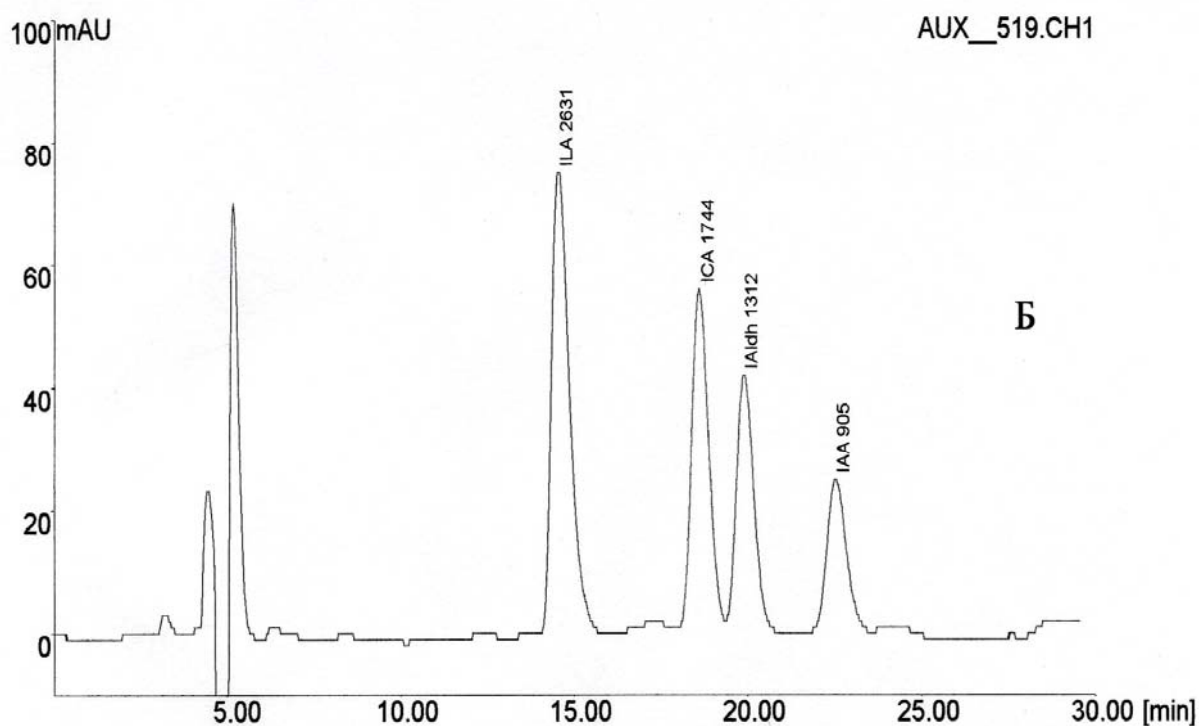
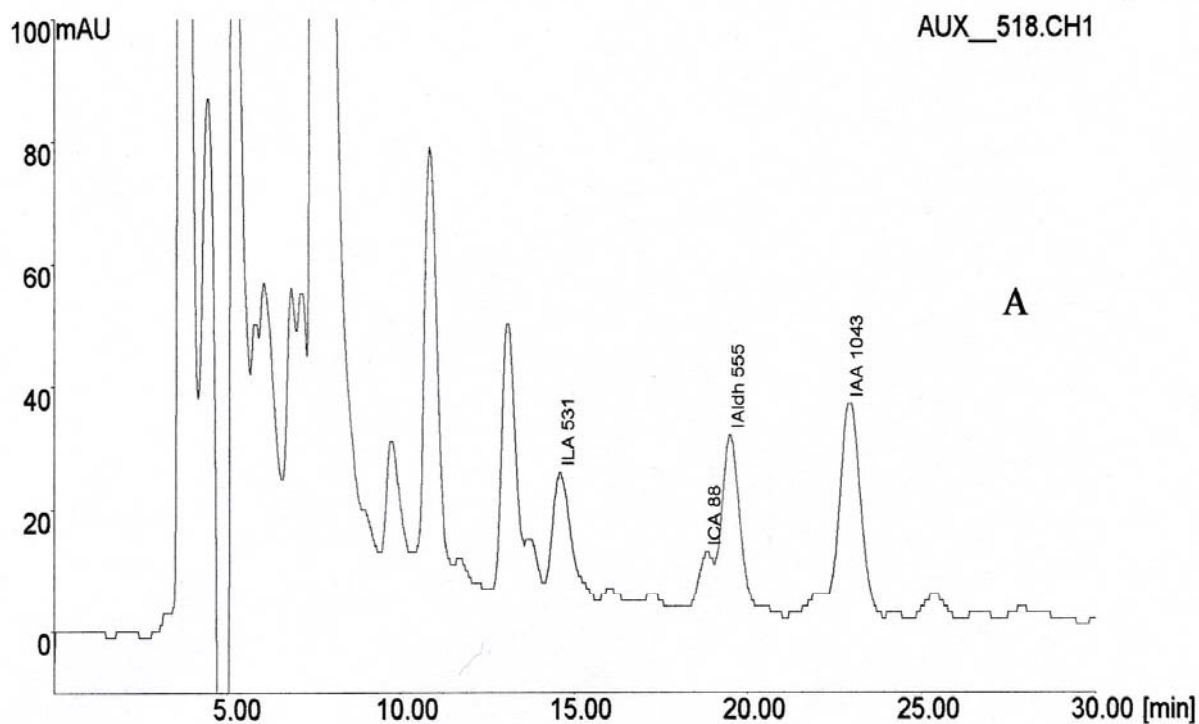


Рис. 1.2. HPLC анализ ауксинов в культуральной жидкости штамма *Bacillus subtilis* Ч-13 после выращивания на минимальной минеральной среде с сахарозой и L-триптофаном при 28⁰С в течение 4 суток на качалке. УФ-детектор, длина волны 220 нм.

А – культуральная жидкость;

Б – стандартная смесь ауксинов с концентрацией каждого компонента 0.017 мкг/мл;

ИЛА – индолил-3-молочная кислота, ИСА – индолил-3-карбоновая кислота,

ИAldh – индолил-альдегид, ИАА – индолил-3-уксусная кислота.

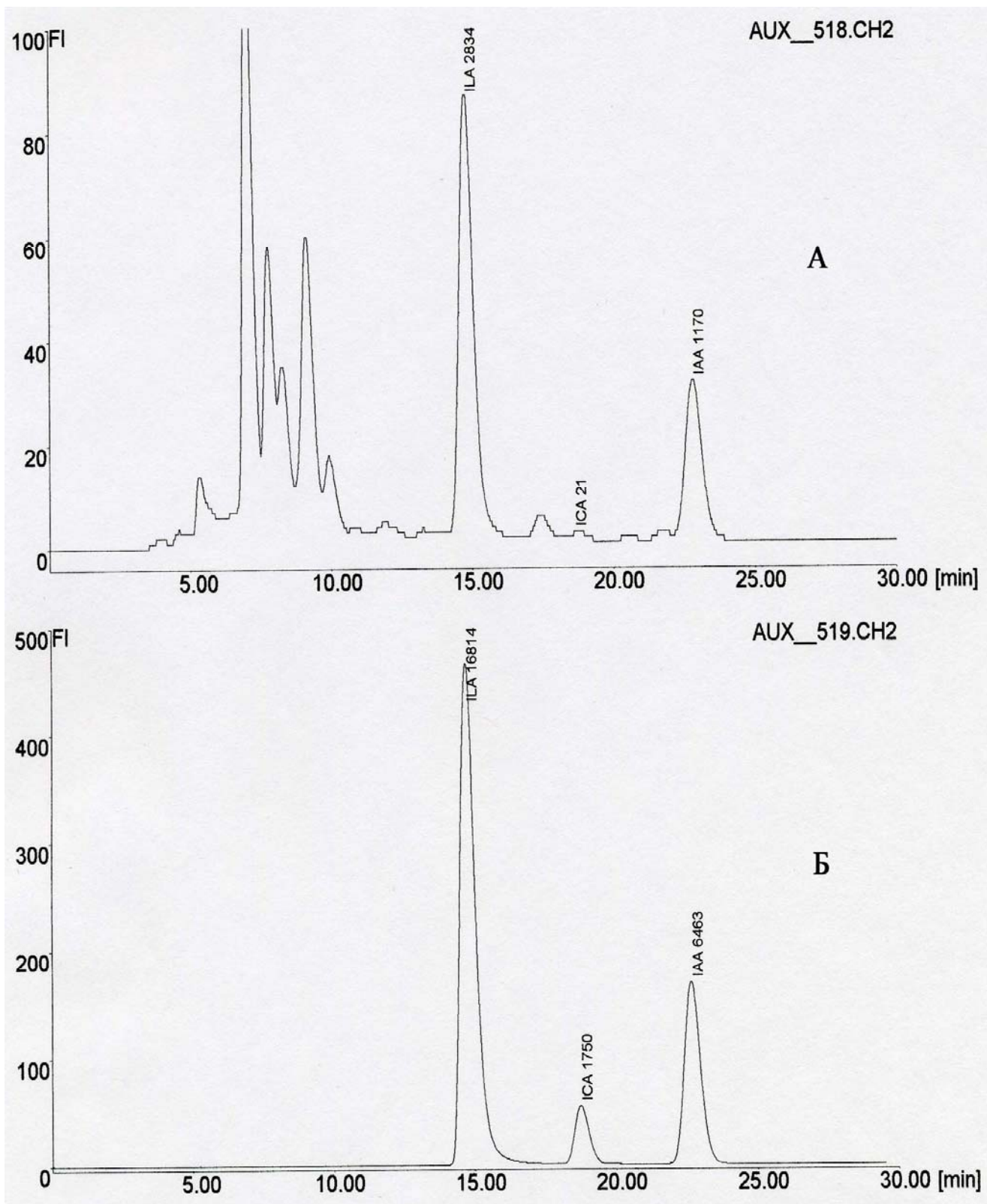


Рис. 1.3. HPLC анализ ауксинов в культуральной жидкости штамма *Bacillus subtilis* Ч-13 после выращивания на минимальной минеральной среде с сахарозой и L-триптофаном при 28⁰С в течение 4 суток на качалке. Флуоресцентный детектор.

А – культуральная жидкость;

Б – стандартная смесь ауксинов с концентрацией каждого компонента 0.017 мкг/мл;

ПА – индолил-3-молочная кислота, СА – индолил-3-карбоновая кислота,

АА – индолил-3-уксусная кислота.

Таким образом, проведенные эксперименты по изучению антифунгальных и ростстимулирующих свойств штамма *Bacillus subtilis* Ч-13 показали, что штамм продуцирует ряд метаболитов, один из которых (вещество с временем удержания (Rt) 41.81 мин на рис. 1А) обладает четкой антифунгальной активностью против тест-гриба *Fusarium graminearum*. Антифунгальная активность, определяемая содержащимися в культуральной жидкости водорастворимыми метаболитами, составляла примерно 50% от суммарной антифунгальной активности живой культуры в тестах на чашках Петри (табл. 1.10), а концентрированный этилацетатный экстракт был активен даже при разведении в 1000 раз. Исследуемый штамм был способен синтезировать при росте на минеральной среде с L-триптофаном (10 мг/л) четыре ауксина: ИУК, индолил-3-молочную кислоту, индолил-3-карбоновую кислоту и индолил-альдегид. Следовательно, штамм Ч-13 имеет потенциальную способность к фитостимуляции, которая может проявляться при благоприятных условиях роста бациллы как в ризосфере, так и за счет накопления фитогормонов в питательной среде при производстве биопрепаратов. Следует отметить, что уровень продукции ИУК (0.91 мкг/мл) близок к уровню продукции данного фитогормона штаммом *Pseudomonas fluorescens* SPB1217, который при высоком титре способен оказывать ингибирующий эффект на развитие проростков растений. Возможно, что ингибирующий эффект на проростках кресс-салата, оказываемый штаммом Ч-13 при титре бактерий 10^7 КОЕ/мл, был связан с уровнем продукции ИУК. Полученные результаты позволяют предположить, что варьированием условий культивирования штамма можно изменять как уровень продукции пула фитогормонов, так и соотношение

между различными производными, усиливая таким образом ростстимулирующий эффект.

Заключение

Приведенные литературные данные показали, что бактерии рода *Bacillus* являются одной из основных групп микробного сообщества почвы и ризосферы растений. Более того, они достаточно часто выделяются из внутренних частей растений (корней, стеблей, семян, клубеньков), что свидетельствует об их тесных взаимоотношениях с растениями. Многие выделенные штаммы бацилл обладали рядом хозяйственно-ценных свойств. Они были способны продуцировать биоконтрольные вещества (антибиотики, сидерофоры, литические ферменты, токсины), фитогормоны и витамины, способностью фиксировать азот атмосферы. Важной особенностью бацилл, обитающих в ризосфере, на корнях и внутри растений, была их высокая конкурентоспособность при колонизации соответствующих частей растений и образовании бактериально-растительных ассоциаций. Все перечисленные свойства бацилл делают их одними из самых перспективных кандидатов на создание микробиологических препаратов и удобрений, обладающих комплексом хозяйственно-ценных свойств. Это в полной мере было показано при изучении антифунгальных и ростстимулирующих свойств штамма *Bacillus subtilis* Ч-13-продуцента микробиологического удобрения Экстрасол. Эти свойства штамма-продуцента оказывали комплексный эффект на растения при применении Экстрасола для бактеризации семян растений или для обработок по вегетирующим растениям, увеличивая урожай и улучшая качество с/х продукции.

Глава 2. Эффективность экстрасола при использовании на посевах сельскохозяйственных культур

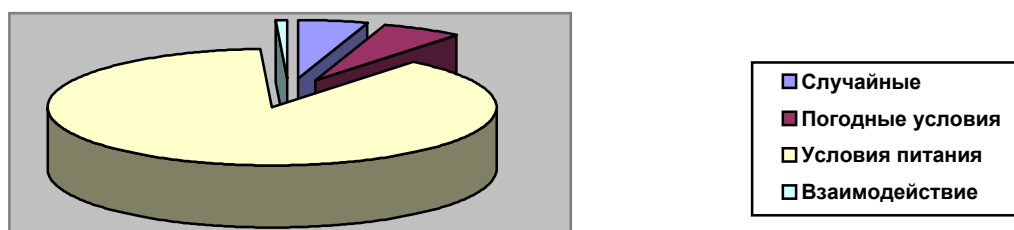
2.1. Яровая пшеница

В полевом опыте, проведенном на опытном поле в Ивановской государственной сельскохозяйственной академии на дерново-среднеподзолистой среднесуглинистой почве, имеющей среднекислую реакцию почвенной среды, среднее содержание подвижного фосфора и подвижного калия, содержание гумуса около 1,7-1,8% изучали эффективность использования азотного удобрения и биопрепарата экстрасол 55.

Установлено, что основной вклад (88%) в формирование урожайности зерна яровой пшеницы сорта Приокская внесли условия минерального питания растений, а именно, внесение азотного удобрения и использование биопрепарата экстрасол-55 (рис. 2.1). На долю вклада погодных условий приходилось 5% и на взаимодействие погодных условий и уровня минерального питания лишь 1%. Поэтому, можно констатировать, что увеличение урожайности зерна яровой пшеницы зависело, главным образом, от использования азотного удобрения и биопрепарата экстрасол 55.

В оба года урожайность зерна яровой пшеницы увеличивалась в результате улучшения условий минерального питания от 16,4-16,9 ц/га до 24,8-26,6 ц/га, при этом максимальный сбор зерна получен при внесении азотного удобрения в дозе 90 кг/га (табл. 2.1).

Рисунок 2.1. Вклад факторов в формирование урожайности зерна яровой пшеницы, %



Увеличение урожайности происходило также и при использовании азотного удобрения в дозе 45 кг/га. Внесение обеих доз азота увеличило урожайность зерна на 5,1-9,1 ц/га или на 31 и 55%. При обработке семян яровой пшеницы экстрасолом 55 в оба года проведения исследований получена достоверная прибавка урожайности зерна, которая составила в среднем за годы испытаний 1,4 ц/га или 8% к фону Р30К45. При посеве

инокулированными семенами на фоне внесения азотного удобрения в дозе 45 кг/га эффект от биопрепарата составил 1,4 ц/га, а суммарная прибавка от использования азотного удобрения и экстрасола 55 достигла 6,4 ц/га или 39% к фону РК-удобрений. Обработка вегетирующих растений яровой пшеницы экстрасолом 55 в фазу трубкования на фоне N45 не обеспечила достоверного увеличения урожайности зерна. Двукратное применение биопрепарата (на семена и по вегетирующим растениям) не имело преимуществ по сравнению с только инокуляцией семян (табл. 2.1). На фоне N45 увеличение урожайности зерна яровой пшеницы от двукратного применения экстрасола 55 составило 1,4 ц/га.

Таблица 2.1. Урожайность зерна яровой пшеницы на дерново-подзолистой среднесуглинистой почве при использовании экстрасола 55 и азотного удобрения, ц/га

Вариант	2004 г	2005 г	В среднем за два года			
			урожай- ность	прибавка		
				обща я	от N- удобре ния	от биопрепар ата
1. P30K45 – фон	16,9	16,4	16,6	-	-	-
2. Ф+ N45	22,7	20,6	21,6	5,1	5,1	-
3. Ф+ N90	26,6	24,8	25,7	9,1	9,1	-
4. Ф+ЭС семена	18,5	17,6	18,0	1,4	-	1,4
5. Ф+N45 + ЭС семена	24,1	21,9	23,0	6,4	5,0	1,4
6. Ф+N45+ЭС трубкование	22,5	21,0	21,8	5,2	1,8	0,2
7. Ф+ЭС семена + ЭС трубкование	18,9	17,8	18,4	1,8	-	1,8
8. Ф+N45+ЭС семена+ трубкование	24,8	22,9	22,8	6,4	6,4	1,4
<i>P, %</i>	<i>1,5</i>	<i>1,8</i>	<i>1,9</i>			
<i>HCP_{0,5}</i>	<i>1,1</i>	<i>1,2</i>	<i>1,2</i>			

Наряду с увеличением урожайности зерна, от биопрепарата возрастал сбор побочной продукции – соломы с 17,4 до 25,2 ц/га, при этом максимальный рост достигнут от внесения азотного удобрения. Ни азотное удобрение, ни экстрасол 55 не влияли на долю зерна в общебиологическом урожае, значение хозяйственного коэффициента составляло 0,48-0,49 (табл. 2.2).

Таблица 2.2. Масса соломы яровой пшеницы и значение хозяйственного коэффициента. Среднее за 2 года

Показатель	Вариант							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Масса соломы, ц/га, HCP ₀₅ -1,2	17,4	22,3	26,5	19,2	24,2	22,8	19,7	25,2
K хоз	0,49	0,49	0,49	0,48	0,48	0,49	0,48	0,48

Качество зерна яровой пшеницы определяется содержанием сырого белка, которое зависит в первую очередь от обеспеченности растений в период вегетации азотом [Павлов, 1984]. В оба года исследований накопление белка в зерне яровой пшеницы составляло примерно одинаковую величину (табл. 2.3)

Таблица 2.3. Влияние азотного удобрения и экстрасола 55 на содержание сырого белка в зерне яровой пшеницы и химический состав урожая, %

Вариант	Зерно			Солома				
	сырой белок			P ₂ O ₅	K ₂ O	N	P ₂ O ₅	K ₂ O
	2004 г.	2005 г.	средн.					
1. P30K45 – фон	9,7	10,2	10,0	0,83	0,60	0,59	0,30	1,10
2. Ф+ N45	12,2	10,5	11,4	0,83	0,61	0,68	0,31	1,13
3. Ф+ N90	13,7	11,1	12,4	0,84	0,60	0,77	0,30	1,17
4. Ф+ЭС семена	10,3	10,4	10,4	0,84	0,61	0,65	0,32	1,13
5. Ф+N45 + ЭС семена	12,5	10,6	11,6	0,85	0,60	0,72	0,31	1,18
6. Ф+N45+ЭС трубкование	12,6	10,6	11,6	0,85	0,59	0,72	0,30	1,18
7. Ф+ЭС семена + ЭС трубкование	10,4	10,4	10,4	0,82	0,58	0,67	0,31	1,15
8. Ф+N45+ЭС семена+ трубкование	12,8	10,6	11,7	0,86	0,63	0,72	0,31	1,15

В среднем за годы проведения опыта при внесении азотного удобрения в возрастающих дозах белковость зерна яровой пшеницы увеличилась с 10 до 11,4-12,4%. Использование для инокуляции семян биопрепарата на фоне без азотного удобрения и при его внесении не отразилось на содержании в зерне белка. По-видимому, минерального азота, находящегося в почве, не хватило для формирования белкового комплекса зерна [Павлов, 1967, Завалин, 2003], поскольку при использовании экстрасола 55 произошло увеличение урожайности. Обработка вегетирующих растений экстрасолом 55 так же не имела положительного эффекта на накоплении в зерне сырого белка.

Не отразилось использование экстрасола 55 и на химическом составе зерна, так содержание фосфора и калия составляло 0,83-0,86% P₂O₅ и 0,58-0,63% K₂O (табл. 2.3).

Содержание азота в соломе яровой пшеницы имело тенденцию к возрастанию при внесении азотного удобрения в возрастающих от 0 до 90 кг/га дозах. Использование экстрасола 55 как для инокуляции семян, так и на филосферу яровой пшеницы положительно не отразилось на концентрации азота в побочной продукции. Ни минеральные удобрения, ни биопрепарат не влияли на содержание фосфора в соломе, которое составляло 0,30-0,31% P₂O₅. Концентрация калия в соломе также мало

изменялась от использования минеральных удобрений и экстрасола 55, составив в среднем за годы проведения опыта 1,10-1,18% K_2O (табл. 2.3).

Таблица 2.4. Изменение площади листовой поверхности надземной массы яровой пшеницы при использовании экстрасола 55. Среднее за 2 года

Вариант	Площадь листьев, тыс.м ² /га			Масса, г/100 растений		
	кущение	трубкование	колошение	кущение	трубкование	колошение
1. P30K45 – фон	7,0	18,4	29,5	15,9	65,3	486,4
2. Ф+ N45	8,0	23,4	38,6	21,1	76,2	753,6
3. Ф+ N90	8,6	25,7	40,1	31,4	100,8	660,5
4. Ф+ЭС семена	7,8	19,7	34,3	17,9	75,3	545,0
5. Ф+N45 + ЭС семена	8,5	25,2	39,9	26,6	84,8	638,1
6. Ф+N45+ЭС трубкование	8,5	26,0	43,0	21,8	81,0	645,0
7. Ф+ЭС семена + ЭС трубкование	8,2	20,1	37,5	18,8	77,7	565,9
8. Ф+N ₄₅ +ЭС семена+ трубкование	8,7	25,7	41,5	26,6	85,6	630,5

Величина урожайности сельскохозяйственной культуры определяется размерами фотоассимиляционной поверхности, эффективность функционирования которой влияет на накопление биомассы растений. При определении площади листьев яровой пшеницы показано, что она возрастала при внесении под культуру азотного удобрения (табл. 2.4). Отмечено положительное влияние обработки семян яровой пшеницы биопрепаратом экстрасол 55, действие которого проявлялось при выращивании инокулированных растений как на фоне без внесения азотного удобрения, так и при его использовании. В фазу кущения в результате инокуляции семян площадь листьев увеличивалась на 10-11%, в фазу трубкования на 9-11% и в колошение на 10-12%, то есть примерно одинаково во все фазы. Положительно сказалась на площади листьев в фазу колошения обработка растений биопрепаратом по листьям, увеличение площади листьев в эту фазу по отношению к фону N45 достигло 11%.

Увеличение площади листьев от биопрепарата и азотного удобрения отразилось на массе растений по фазам вегетации (табл. 2.4). Так, в фазу кущения растения яровой пшеницы, выращенные при посеве инокулированными семенами, имели массу на 11-13% больше, по сравнению с необработанными растениями. В фазу трубкования эти различия достигали 11-12% и в колошение на фоне без азотного удобрения на 11%, а на фоне внесения азотного удобрения инокуляция семян не имела преимуществ по сравнению с фоновым вариантом. Обработка препаратом вегетирующих растений в фазу трубкования не влияла на массу растений.

Известно, что при использовании биопрепаратов наблюдается повышение концентрации азота в растениях, которое происходит, как правило, на поздних этапах онтогенеза, поскольку фиксированный микроорганизмами азот используется растениями после минерализации микробной биомассы [Садыков, 1989; Кожемяков, Тихонович, 1997; Завалин, 2005].

Таблица 2.5. Динамика содержания и накопления азота растениями яровой пшеницей. Среднее за два года

Вариант	Содержание, % на сух. в-во			Накопление, г/100 растений		
	кущение	трубкование	колошение	кущение	трубкование	колошение
1. P30K45 – фон	3,10	2,20	1,70	0,49	1,44	8,26
2. Ф+ N45	3,24	2,52	2,00	0,68	1,92	15,07
3. Ф+ N90	3,60	2,84	2,15	1,13	2,86	14,20
4. Ф+ЭС семена	3,16	2,33	1,84	0,56	1,75	10,00
5. Ф+N45 + ЭС семена	3,28	2,70	2,10	0,87	2,29	13,40
6. Ф+N45+ЭС трубкование	3,28	2,66	2,10	0,72	2,15	13,54
7. Ф+ЭС семена + ЭС трубкование	3,18	2,43	1,86	0,60	1,89	10,52
8. Ф+N45+ЭС семена+ трубкование	3,32	2,70	2,08	0,88	2,31	13,11

В этом опыте было установлено, что при использовании азотного удобрения концентрация азота в растениях в фазу кущения яровой пшеницы возрастала с 3,10 до 3,60%, применение препарата экстрасол 55 на семена, практически, не отразилось на концентрации азота. В фазу трубкования сохранилось положительное действие азотного удобрения на обеспеченности растений азотом, а инокуляция семян биопрепаратом существенно не влияла на этот показатель. И только в фазу колошения от экстрасола 55 происходило увеличение концентрации азота в растениях с 1,70 до 1,84% на фоне без внесения азотного удобрения и имела место тенденция увеличения на фоне N45 как при инокуляции семян, так и при обработке препаратом вегетирующих растений (табл. 2.5).

Накопление азота в растениях зависит от их массы и концентрации N. С возрастом растений в результате увеличения фитомассы, накопление азота в растениях возрастало в 16-18 раз (табл. 2.5). В фазу кущения обработка семян экстрасолом 55 не влияла на накопление азота в растениях яровой пшеницы, его действие начало проявляться в фазу трубкования и сохранилось в колошение. При нанесении препарата на растения в фазу трубкования изменений накопления азота в растениях по сравнению с фоном не происходило.

Препарат экстрасол 55, обладая антифунгицидным действием, положительно влиял на снижение пораженности растений корневыми гнилями (табл. 2.6). В 2004 г. фазу кущения при внесении азотного

удобрения на одну треть возрасли распространение и развитие коневых гнилей. При инокуляции семян экстраасолом 55 почти в два раза по сравнению с фоном азотного удобрения снизилась пораженность яровой пшеницы корневыми гнилями.

Таблица 2.6. Влияние экстраасола на пораженность яровой пшеницы корневыми гнилями, %

Вариант	2004 г.				2005 г.	
	Кущение		Полная спелость		Полная спелость	
	распрост- ранение	Развит ие	распрост- ранение	развитие	распрост- ранение	развит ие
1. P30K45 – фон	21	9,0	38	20,0	18	26
2. Ф+ N45	29	7,0	44	19,0	15	35
3. Ф+ N90	30	7,5	46	19,5	15	34
4. Ф+ЭС семена	15	4,5	29	10,5	10	23
5. Ф+N45 + ЭС семена	14	4,0	30	11,0	11	21
6. Ф+N45+ЭС трубкование	26	6,5	42	17,0	11	36
7. Ф+ЭС семена + ЭС трубкование	16	4,5	30	12,5	10	23
8. Ф+N45+ЭС семена+ трубкование	15	4,0	27	11,0	12	26

Использование инокулированных семян на фоне с внесением азотного удобрения положительно сказалось на снижении заболевания растений. В фазу полной спелости яровой пшеницы по сравнению с кущением увеличилось количество пораженных растений. Инокуляция семян экстраасолом 55 снижала распространенность корневых гнилей с 38-44% до 29-30%, а их развитие с 19-20% до 10,5-12%. Использование препарата по вегетирующим растениям в фазу трубкования не оказало столь заметного влияния на пораженность растений корневыми гнилями, как допосевная инокуляция семян (табл. 2.6).

Во второй год опыта при погодных условиях в начале вегетации менее благоприятных для развития корневых гнилей по сравнению с 2004 г. количество пораженных растений корневыми гнилями было меньше, однако, они были поражены в большей степени (табл. 2.6). Экстраасол 55 снижал распространенность корневых гнилей яровой пшеницы с 18% до 10-12%. В этот год отмечено большее их развитие по сравнению с предыдущим, но и в этих условиях бактериализация семян экстраасолом 55 положительно сказалась на снижении заболевания.

Использование биопрепаратов, как правило, способствует улучшению минерального питания растений, интегральным показателем которого служит накопление в урожае основных элементов минерального питания.

Вынос азота с урожаем яровой пшеницы в оба года проведения опыта при внесении азотного удобрения возрос в 1,5-2,0 раза, при инокуляции семян экстразолом 55 в 1,2-1,6 раза. При использовании препарата по вегетирующим растениям лишь в 1,04 раза (табл. 2.7). Внесение препарата в два приема на семена и на листья, практически не имело преимуществ по сравнению с инокуляцией.

Таблица 2.7. Использование азота яровой пшеницей при применении экстразола 55 и минеральных удобрений

Вариант	Вынос с урожаем зерна и соломы, кг/га			Увеличение к фону РК, кг/га	КИ Нуд., %	Азотный индекс
	2004 г.	2005 г.	средний			
1. P30K45 – фон	36,4	42,0	39,2	-	-	0,72
2. Ф+ N45	61,7	55,3	58,5	19,3	43	0,74
3. Ф+ N90	82,6	69,9	76,3	37,0	41	0,73
4. Ф+ЭС семена	43,1	47,2	45,2	6,0	-	0,72
5. Ф+N45 + ЭС семена	68,1	60,4	64,2	25,0	57	0,74
6. Ф+N45+ЭС трубкавание	63,9	57,6	60,7	21,6	48	0,73
7. Ф+ЭС семена + ЭС трубкавание	45,2	48,2	46,7	7,5	-	0,72
8. Ф+N45+ЭС семена+ трубкавание	71,4	63,0	67,2	28,0	62	0,72

Коэффициент использования растениями азота из удобрения при инокуляции семян экстразолом увеличивался 1,3 раза, а при обработке препаратом вегетирующих растений лишь в 1,12 раза (табл. 2.7). При использовании биопрепарата в два срока коэффициент использования азота мало изменялся по сравнению с вариантом только инокуляции семян.

Применение азотного удобрения и использование экстразола 55 не отразилось на значении азотного индекса (табл. 2.7), поскольку распределение азота между зерном и соломой определяется преимущественно сортовыми особенностями, а не условиями минерального питания [Климашевский, 1992], хотя имеет место увеличение доли азота зерна при использовании биопрепаратов [Кандаурова, 1997].

При использовании биопрепарата экстразол 55 для инокуляции семян с урожаем яровой пшеницы возрос вынос фосфора на 10-12% (табл. 2.8). Вынос калия увеличивался значительно при использовании препарата на семена (57-62%), за счет обработки вегетирующих растений увеличение выноса калия получено значительно меньше.

Таким образом, увеличение урожайности зерна яровой пшеницы от экстразола 55 происходит только при инокуляции в дозе 1 л препарата на

тонну семян, эффективность биопрепарата одинакова как на фоне РК-удобрений, так и на фоне НРК. Биопрепарат не влияет на содержание в зерне сырого белка и зольных элементов. Увеличение урожайности яровой пшеницы происходит в результате улучшения условий роста растений (обеспеченность растений азотом, увеличение площади листьев и фитомассы растений в период вегетации, снижения пораженности растений корневыми гнилями). В результате использования экстрасола 55 возрастает накопление в урожае азота, фосфора и калия, повышается коэффициент использования растениями азота удобрения.

Таблица 2.8. Накопление фосфора и калия в зерне и соломе яровой пшеницы при использовании экстрасола 55. Среднее за два года

Вариант	Вынос с урожаем, кг/га		Увеличение выноса за счет биопрепарата			
	P ₂ O ₅	K ₂ O	P ₂ O ₅		K ₂ O	
			кг/га	%	кг/га	%
1. P30K45 – фон	19	21	-			
2.Ф+ N45	25	38	-			
3.Ф+ N90	30	46	-			
4. Ф+ЭС семена	21	33	2	10	12	57
5. Ф+N45 + ЭС семена	28	42	3	12	4	11
6.Ф+N45+ЭС трубкавание	25	40	0	-	2	5
7.Ф+ЭС семена + ЭС трубкавание	21	34	2	10	13	62
8.Ф+N45+ЭС семена+ трубкавание	28	43	3	12	5	13

В степной зоне Курганской области на чернозёме выщелоченном среднемощном среднесуглинистом с содержанием гумуса в пахотном слое (по Тюрину) 4,9-5,2%, рН сол. 5,8-6,0; гидролитическая кислотность 3-4 мг-экв/ 100г, по предшественникам – пар и зерновые (пшеница), зерновые (горох) определяли эффективность обработки экстрасолом 55 семян сортов яровой пшеницы.

В результате исследований установлено, что при обработке семян яровой пшеницы сорта Омская 18, посеянной по чистому пару, и как следствие этого находящейся в лучших условиях увлажнения, экстрасол снизил поражаемость корневыми гнилями с 5,8 % (на контроле) до 2,7 %. Прибавка урожайности зерна (4,9 ц/га) получена за счет повышения числа зерен в колосе и массы 1000 зерен (табл. 2.9). На пшенице сорта Новосибирская 89, посеянной после зерновых культур, где особенно остро ощущался недостаток влаги, обработка семян экстрасолом была не эффективной (табл.2.10).

Таблица 2.9. Эффективность экстрасола 55 на яровой пшеницы сорта Омская 18 (предшественник – пар, удобрения N40P20)

Вариант	Полевая всхожесть, %	Развитие корневых гнилей, %	Урожай всего	зерна, ц/га +/- к контролю
Контроль	46,2	5,8	24,5	-
Экстрасол 1л/т	46,0	2,7	29,4	4,9
НСР _{0,5}			1,1	
	число продуктивных стеблей, шт/м ²	число зерен в колосе, шт.	масса 1000 зерен, г	Содержание сырой клейковины в зерне, %
Контроль	362	30,0	31,9	34,0
Экстрасол 1л/т	364	34,2	34,6	36,0

Таблица 2.10. Урожайность яровой пшеницы сорта Новосибирская 89 при применении экстрасола (предшественник – зерновые, удобрение N40)

Вариант	Урожай зерна, ц/га	Прибавка урожая, ц/га
Контроль	12,5	-
Экстрасол 55 1л/т	12,5	0,0
НСР _{0,5}		0,8

Экстрасол 55 хорошо сочетался и с применением химического протравителя премис 200 (табл. 2.11). Так, на яровой пшенице гибрида Л 6547, размещённой по чистому пару и зараженной пыльной головней, обработка семян только препаратом снижала пораженность растений болезнью с 1,3 % до 0,4%, а от премиса - 0,1%. Показатели урожайности, структуры урожая и содержания клейковины в зерне были примерно равноценными по обоим препаратам. Химический протравитель не уменьшал положительного влияния биопрепарата экстрасол 55 на развитие болезней и урожайность зерна пшеницы.

Таблица 2.11. Эффективность экстрасола 55 и протравителя премис 200 на яровой пшенице гибрид Л 6547 (предшественник – пар, удобрения N40P20)

Вариант	Полевая всхожесть, %	Поражение пыльной головней, %	Урожай зерна, ц/га	
			всего	+/- к контролю
Контроль	64,2	1,3	27,5	-
Экстрасол 1 л/т	68,8	0,4	32,4	4,9
Экстрасол 1л/т+ премис 200 0,1 л/т	67,0	0,1	35,5	5,0
Премис 200 0,1 л/т	77,6	0,0	31,0	3,5
НСР _{0,5}			1,5	
	Содержание сырой клейковины в	Структура урожая		

		число продуктивных стеблей, шт/м ²	масса 1000 зерен, г
Контроль	31,0	290	34,0
Экстрасол 1 л/т	29,6	310	36,4
Экстрасол 1л/т+ премис 200 0,1 л/т	30,0	368	35,5
Премис 200 0,1 л/т	30,0	346	34,2

Эффективность использования экстрасола на различных фонах азотного питания приведена в таблице 2.12. При размещении по зерновому предшественнику на неудобренном фоне использование одного экстрасола было недостаточно для проявления его фунгицидных или стимулирующих свойств, а на фоне N40 экстрасол в дозе 1,0 л/т семян обеспечил прибавку урожайности зерна на 1,2 ц/га за счет повышения числа зерен в колосе.

Таким образом, при использовании препарата экстрасол 55 в условиях острого недостатка влаги и повышенных температур, получено устойчивое повышение урожайности зерна яровой пшеницы при размещении ее по чистому пару, где были созданы лучшие условия увлажнения.

Таблица 2.12. Эффективность экстрасола 55 при обработке семян яровой пшеницы Омская 18 на разных уровнях азотного питания (предшественник – зерновые)

Вариант	Развитие корневых гнилей, %	Урожай зерна		
		всего	+/- к контролю	число продуктивных стеблей, шт/м ²
N0				
Контроль		9,5	-	210
Экстрасол 0,5 л/т		8,9	-0,6	204
Экстрасол 1л/т	8,0	9,1	-0,4	210
Экстрасол 2л/т	11,4	9,1	-0,4	218
N40				
Контроль (0)	7,6	10,9	-	220
Экстрасол 0,5л/т	10,7	10,0	-0,9	228
Экстрасол 1л/т	7,8	12,1	1,2	230
Экстрасол 2л/т	10,4	10,4	0,5	230
НСР 0,5		0,8		
Структура урожая			Содержание	

	длина колоса, см.	число колосков в колосе, шт.	число зерен в колосе, шт.	масса 1000 зерен, г	
N0					
Контроль	8,2	14,6	33,5	27,5	32,8
Экстрасол 0,5 л/т	9,0	15,6	36,3	27,1	32,2
Экстрасол 1л/т	8,9	15,4	34,3	27,8	32,6
Экстрасол 2л/т	8,3	15,2	35,0	27,0	32,0
N40					
Контроль (0)	8,8	15,5	36,8	26,8	33,2
Экстрасол 0,5л/т	8,4	14,6	31,8	26,8	33,2
экстрасол 1л/т	9,0	15,7	37,1	26,9	33,8
Экстрасол 2л/т	8,7	15,8	35,9	28,0	32,6

При выращивании яровой пшеницы, на более жёстких условиях питания и увлажнения, эффект от применения препарата экстрасол 55 был неустойчивым. Испытание препарата экстрасол 55 на яровой пшенице в условиях засухи свидетельствует, что он способен защитить культурные растения от ряда болезней, стимулирует их рост и развитие растений (табл. 2.12).

В опыте ВНИИ зернобобовых культур эффективность действия препарата экстрасол на снижение корневых гнилей у яровой пшеницы была четко выражена в фазы кущения и колошения (табл. 2.13).

Предпосевная обработка семян яровой пшеницы препаратом экстрасол способствовала снижению заболевания растений корневыми гнилями в фазе кущения на 4,1%, при этом степень развития болезни была меньше на 0,6%. В фазе колошения поражения корневыми гнилями существенно увеличилось. Так, на контроле поражённых растений было 70%, а на делянках от обработанных экстрасолом их было 40%, т.е. меньше на 30%, при этом степень развития болезни уменьшилась на 6,0%.

Предпосевная обработка семян препаратом экстрасол повышает урожайность зерна яровой пшеницы на 14,1-31,7%. Содержание в зерне яровой пшеницы сырой клейковины от применения экстрасола увеличивается на 1,5% и снижает накопление в зерне цезия 137.

Таблица 2.13. Влияние препарата экстрасол на снижение корневых гнилей у яровой пшеницы, %

Вариант	Поражение растений корневыми гнилями	Степень развития болезни
Кущение		
1. Контроль	25,0	5,0
2. Экстрасол	21,9	4,4
Колошение		

1. Контроль	70,0	14,0
2. Экстрасол	40,0	8,0

Установлено, что в первые две декады высота растений у обработанных семян пшеницы экстрасолом была выше, чем на контроле – до 21,1%. В дальнейшем высота растений выравнивалась.

Увеличение урожайности зерна яровой пшеницы происходило за счет увеличения на 4% полевой всхожести семян и на 11,4% - массы зерна с 1 колоса, то есть проявлялось стимулирующее влияние на растения микроорганизмов, входящих в состав биопрепарата экстрасол.

В полевом опыте на южном маломощном чернозёме среднесуглинистом, имеющем содержание гумуса 3,0% и рН 7,0-7,3, в Костанайской области изучали эффективность экстрасола-55 на яровой мягкой пшенице сорта Омская 18. Исследования показали, что при обработке семян экстрасолом всхожесть увеличилась на 1,6% и была на уровне с вариантом, где семена были обработаны гуматом натрия. Применение биопрепарата положительно влияло на выживаемость растений (табл.2.14).

Сохранность растений к концу вегетации возросла по сравнению с контролем на 3,8% при предпосевной обработке семян и на 2,0% при опрыскивании вегетирующих растений.

Таблица 2.14. Влияние обработки семян Экстрасолом на всхожесть семян яровой пшеницы сорта Омская 18

Вариант	Лабораторные		Полевая всхожесть		Сохранность к уборке	
	энергия прораст.	всхожесть	растений, шт/м ²	%	растений, шт/м ²	%
	%					
Контроль	92	95	231,3	77,1	236	102,0
Гумат натрия 30% р.п .(семена)	94	96	235,2	78,4	252	107,0
Экстрасол 55 (обработка семян)	92	95	236,1	78,7	249,8	105,8
Экстрасол 55 (опрыскивание в трубкование)	-	-	232,0	77,3	241,3	104,0
Дивиденд 3% к.с.	88	92	236,7	78,9	247,4	104,5

Положительное действие оказал биопрепарат экстрасол на прирост надземной биомассы и корней яровой пшеницы. Предпосевная обработка семян препаратами обеспечила лучшие стартовые условия для роста растений, что в дальнейшем способствовало лучшему развитию яровой пшеницы (табл. 2.15).

Таблица 2.15. Динамика накопления биомассы растений яровой пшеницы, г/м²

Вариант	10 сутки после всходов	Кущение		Цветение		Перед уборкой	
		надзем ная масса	первичн ые корни	надземная масса	корни в слое 0-20 см	надзе мная масса	корни в слое 0-20 см
Контроль	0,43	18,3	2.2	350	147	300	215
Гумат натрия 30%	0,52	22,7	3.0	390	160	360	220
Экстрасол-55 (обработка семян)	0,50	21,9	2,8	380	156	340	217
Экстрасол-55 (опрыскивание в				365	149	335	216

На 10-сутки проращивания биомасса проростков превысила контроль на 16% и была по экстрасолу на уровне эталона гумат натрия (20,9%). Аналогичные различия по надземной массе сохранялись в фазы кущения, цветения и перед уборкой (8,5-19,6%). Действие биопрепаратов на массу корневой системы заметно проявилось в начале вегетации (27,2% от контроля), в цветение различия были меньшими (6,1%) и перед уборкой практически сгладились.

Таблица 2.16. Влияние обработки семян пшеницы экстразолом 55 на содержание азота в растениях, %

Вариант	Кущение	Цветение
Контроль	3,5	1,5
Гумат натрия 30% р.п.	5,5	2,2
Экстрасол 55 (обработка семян)	4,7	1,9

Экстрасол, благодаря входящим в состав штаммам бактерий не только улучшал азотное питание (табл. 2.16), но и подавлял патогенную микрофлору. Кроме плесневения, он подавлялось распространение и развитие корневых гнилей (табл. 2.17, 2.18, 2.19). Биологическая эффективность экстрасола против корневых гнилей составила 41,8% в фазе кущения. Растения, обработанные препаратом оказались устойчивее к корневым гнилям и перед уборкой урожая.

При обработке семян экстразолом биологическая эффективность против бурой ржавчины составила 3,2-2,7%, септориоза 2,8-8,3% была слабой. Обработка в фазе трубкования оказала влияние на развитие аэрогенных инфекций. Биологическая эффективность экстрасола против бурой ржавчины 17,3-19,8%, стеблевой 4,9%, в значительной степени уступала фунгициду тилту-премиум. Экстрасол при эпифитотии ржавчин вероятней всего не остановит распространения заболеваний, но снизил их вредоносность.

Таблица 2.17. Распространение и развитие болезней пшеницы при применении экстрасола 55, %

Вариант	Плесневение семян и проростков		Корневые гнили					
			кущение			молочная спелость		
	поражен ность, %	биологическая эффективност ь	распро странен ность,%	разви тие,%	биол. эф- фект	распро странен ность,%	разви тие,%	Биологиче ская эффектив ность
Контроль	9	-	13,1	4,3	-	22,7	10,9	
Гумат натрия (семена)	7	22,2	9,9	3,0	30,2	20,4	8,6	8,3
Экстрасол (семена)	3,4	55,6	6,5	2,6	41,8	19,5	7,8	28,4
Дивиденд 3% к.с.	1,5	83,3	5,3	2,0	53,5	17,6	7,0	36,6
Экстрасол (трубков.)						17,6	7,0	35,8
Тилт премиум						16,0	6,0	45,0

При применении биопрепарата экстрасол, также как и гумата натрия, в период активного роста растений отмечено увеличение в тканях надземной массы содержания азота (на 34,2% относительных в кущение и 26,6% в цветение).

При обработке семян препаратами отмечалось снижение пораженности яровой пшеницы плесени и корневой гнили. По биологической эффективности против плесени экстрасол (55,6%) уступает протравителю дивиденд 3% к.с., но превышает действие гумата натрия (22,2%). Против септориоза эффективность экстрасола оказалась немного выше, чем против ржавчин (33,3-36,5%). Следует отметить, что аналогичное действие препаратов получено при обработке растений и в фазу трубкования.

Таблица 2.18. Распространение и развитие болезней вызываемых аэрогенной инфекцией при обработке посевов препаратами

Вариант	Цветение		Молочная спелость	
	Бурая ржавчина	Септориоз	Бурая ржавчина	Септориоз

	Распространение	Развитие	Биологическая эффективность	Распространение	Развитие	Биологическая эффективность	Распространение	Развитие	Биологическая эффективность	Распространение	Развитие	Биологическая эффективность
Контроль	100	18,7	-	100	12	-	100	37,5	-	100	17,5	
Экстрасол 55 (2 л/га кущение)	100	18,1	3,2	100	11	8,3	100	36,5	2,7	100	17,0	2,8
Экстрасол 55 (2 л/га в трубкование)	100	15,0	19,8	100	8,0	33,3	100	31,0	17,3	100	11,1	36,5
Тилт-премиум 37,5% (колошение 0,3 3л/га)	100	6,7	64,2	100	5,7	53	100	3,5	90,7	100	2,8	78,8

Таблица 2.19. Влияние биопрепаратов на заболевание растений стеблевой ржавчиной в фазу молочной спелости яровой пшеницы

Вариант	Распространенность	Биологическая эффективность
Контроль	41	
Экстрасол 55 (2 л/га кущение)	41	0
Экстрасол 55 (2 л/га в трубк.)	39	4,9
Тилт-премиум (колошение)	4,0	90,2

Максимальная кустистость растений сформировалась с предпосевной обработкой семян пшеницы гуматом натрия (1,6 общая и 1,5 продуктивная), но здесь растения уступали химическому протравителю по озерненности колосьев (на 0,2-2) (табл.2.20).

Таблица 2.20. Структура урожая яровой пшеницы при использовании биологических и химических препаратов

Вариант	Кустистость		Высота растений, см	Длина колоса, см	Число колосков в колосе, шт.	Озерненность колоса, шт.
	общая	продуктивная				
Контроль (без обработки)	1,5	1,4	80,4	6	13	23,2
Гумат натрия 30% р.п.	1,6	1,5	32,0	6	12	23,0
Экстрасол 55 (обработка)	1,5	1,4	82,2	6	13	23,9
Дивиденд 3% (семена)	1,5	1,3	82,5	7	14	25,0
Экстрасол 55 (опрыскивание в	1,5	1,4	81,0	6	12	23,6

На вариантах применения экстрасола кустистость была на уровне контроля (1,5 и 1,4), но выше были показатели озерненности.

Применение препаратов на яровой пшенице обеспечило дополнительный сбор зерна (табл. 2.21).

Таблица 2.21. Урожайность зерна яровой пшеницы при использовании биопрепаратов и пестицидов

Вариант	Урожайность, ц/га	Прибавка		Сырая клейковина, %
		ц/га	%	
Контроль	19,3	-	-	26,2
Гумат натрия 30% р.п.(семена)	21,8	2,5	12,9	26,8
Экстрасол 55 (1 л/т семян)	21,3	2,0	10,4	26,6
Дивиденд 3% (2 кг/т семян)	22,0	2,7	13,9	26,2
Экстрасол 55 (2 л/т трубкование)	21,1	1,8	9,3	26,4
Тилт-премиум 37,5% с.п. (0,33 л/га колошение)	22,4	3,1	16,0	26,6

НСР₀₅

1,6

Предпосевная обработка семян экстрасолом 55, стимулируя рост растений, способствуя лучшей выживаемости растений, повышая устойчивость к семенной инфекции, позволила увеличить сбор зерна на 10,4% по сравнению с контролем, где урожайность составила 19,3 ц/га.

Применение экстрасола 55 в период вегетации пшеницы (в фазе трубкования) способствовало росту урожайности зерна на 1,8 ц/га (9,3% от

контроля). В сравнении с химическими эталонами показатели ниже (на 0,5 - 1,3 ц/га), но отклонения в пределах ошибки опыта. В максимальной степени (на 1,3 ц/га) различия в урожае зерна отмечены при обработке экстразолом 55 против болезней вызываемых аэрогенной инфекцией. Уступая фунгициду тилту-премиуму 37,5% с.п. (0,33 л/га) по биологической эффективности в 2-3 раза, экстрасол уступал и по хозяйственной эффективности. Но полученная по экстразолу прибавка урожая зерна в сравнении с контролем существенна.

Таким образом в условиях Казахстана обработка семян пшеницы препаратом экстрасол 55 способствовала росту полевой всхожести на 1,6%. При обработке семян яровой пшеницы экстразолом 55 (1 л/т) и опрыскивании вегетирующих растений (2 л/га) увеличилась сохранность растений к концу вегетации на 2 - 2,5%). Биопрепарат экстрасол обладает росторегулирующим действием. Биомасса особенно в начальный период развития растений превысила контроль по надземной части на 8,5% - 19,6%, по зародышевой корневой системе - 27,1%, узловым корням - 6,1%. Он способствовал росту устойчивости яровой пшеницы к факультативным патогенам. Снизилась пораженность проростков и семян плесенью (биологическая эффективность 55,3%) и корневыми гнилями (биологическая эффективность 41%). Экстрасол 55 сдерживал развитие ржавчин в незначительной степени (биологическая эффективность 4-19,8%), против септориоза биологическая эффективность составила 36,5%. Уступая эталонам (дивиденду 3%, тилту-премиум 37,5%) по биологической эффективности экстрасол 55 имеет перспективы с точки зрения экологической безопасности. При обработке семян яровой пшеницы экстразолом 55 (норма расхода 1 л/т) урожайность превысила контроль (без обработки) на 10,4%. Применение экстрасола 55 (2 л/га) по вегетирующим растениям в фазе кущения способствовало увеличению урожайности зерна яровой пшеницы на 9,3%.

Примерно в той же зоне (ТОО «Шкуратов» Тарановского района Костанайской области) была проведена производственная проверка эффективности применения биологического препарата Экстрасол 55 на яровой пшенице сорта Омская 18. Почва южный маломощный чернозем среднесуглинистый, содержание гумуса 3,0%, рН 7,0-7,3, предшественник - яровая мягкая пшеница. Основная обработка почвы - мелкая плоскорезная на глубину 10-12 см. Предпосевная обработка почвы произведена плоскорезами на глубину 6-8 см. Норма высева семян - 3,0 млн. зерен на гектар. Производственное применение препарата Экстрасол-55 на площади 2500 га оказало положительное влияние на всхожесть, рост и развитие яровой пшеницы, что способствовало увеличению накопления биомассы растений, кроме того, отмечено подавление биопрепаратом патогенной

микрoфлоры (плесень, распространение и развитие корневых гнилей и болезней, вызываемых листовостебельными инфекциями) (табл.2.22, 2.23).

Таблица 2.22. Распространение и развитие болезней пшеницы, вызываемых почвенной и семенной инфекцией в производственном опыте

	Плесень семян и проростков		Корневые гнили в кушении		
	поражен е, %	биологическая эффективность	распростране ние	развитие	биологическая эффективность, %
			%		
Контроль	11	-	15,3	5,1	-
Экстрасол (семена)	4	63,4	7,9	2,7	48,0

Таблица 2.23. Распространение и развитие болезней вызываемых аэрогенной инфекцией при обработке посевов препаратом экстрасол-55 посевов яровой пшеницы, %

Вариант	Плесень семян и проростков						Молочная спелость							
	Бурая ржавчина			Септориоз			Бурая ржавчина			Септориоз			Стеблевая ржавчина	
	Распространенность	Развитие	Биологическая эффективность	Распространенность	Развитие	Биологическая эффективность	Распространенность	Развитие	Биологическая эффективность	Распространенность	Развитие	Биологическая эффективность	Распространенность	Биологическая эффективность
Контроль	100	19,6	-	100	12	-	100	42,3	-	100	21,5	К	49	-
Экстрасол 55 (2л/га трубкован ие)	100	11,9	39	100	7,9	34	100	24,5	42	100	13,3	38	27	45

Полевая всхожесть семян яровой пшеницы возростала лишь на 1,8%. Снизилась пораженность растений яровой пшеницы корневыми гнилями, где биологическая эффективность составила 48%. Обработка вегетирующих растений экстрасолом-55 ограничила степень поражения растений, вызываемых аэрогенными инфекциями. Биологическая эффективность составила: против септориоза 34-38%, против бурой ржавчины 39-42%, против стеблевой ржавчины 45%. В результате обработки семян с нормой расхода 1л/т и для опрыскивания в период вегетации с нормой расхода 2л/т при выращивании яровой пшеницы с целью стимулирования роста растений и повышения их устойчивости к болезням (плесневению семян и проростков, корневой гнили, бурой и стеблевой ржавчины, септориозу)

получена существенная прибавка урожайности яровой пшеницы - 2,5 ц/га, что составляет 12% от контроля, где урожайность получена 21 ц/га (табл.2.24).

Кроме того, в результате использования биопрепарата отмечено повышение содержания в зерне сырой клейковины, по отношению к контролю оно изменялось с 26 до 27 %.

Таблица 2.24. Влияние биопрепарата экстрасол 55 на урожайность зерна и содержание в нем сырой клейковины в производственном опыте

Вариант	Урожайность, ц/га	Прибавка		Содержание сырой клейковины, %
		ц/га	%	
Контроль	21	-	-	26,0
Экстрасол-55 (1л/т семена + 2л/т трубкавание)	23,5	2,5	12	27,04

2.2. Озимая пшеница

В Краснодарском НИИСХ на чернозёме выщелоченном определяли эффективность биопрепарата экстрасол 55 при обработке семян и посевов озимой пшеницы сорта Лира на различных фонах минеральных удобрений. Семена обработаны экстрасолом 55; семена обработаны экстрасолом 55 + экстрасол 55 в фазу трубкавания; семена обработаны экстрасолом 55 + экстрасол в фазу колошения; семена обработаны экстрасолом 55 + экстрасол 55 в фазу трубкавания + экстрасол 55 в фазу колошения; семена обработаны витаваксом. Расход препарата экстрасол 55 составил при обработке семян 1,0 л/т, вегетирующих растений – 2,0 л/га. Расход витавакса составил 3,0 л/т семян. Во время вегетации препарат экстрасол 55 вносили из расчёта рабочего раствора 250 л/га.

Озимая пшеница в процессе перезимовки может повреждаться и гибнуть в результате неблагоприятных погодных факторов - низких отрицательных температур, переувлажнения, пыльных бурь, выпирания. Устойчивость растений к воздействию неблагоприятных факторов среды зависит от их общего физиологического состояния. В условиях 2001-2002 с.-х. года определено влияние обработки семян экстрасолом 55 на перезимовку растений озимой пшеницы (табл.2.25).

За осенне-зимний период доля перезимовавших растений превысила 90%. При обработке семян экстрасолом 55 как по неудобренному, так и удобренному фонам перезимовало 96,6 - 96,7% растений озимой пшеницы.

Количество растений на единице площади и способность к продуктивному кущению являются основными факторами формирования

продуктивного стеблестоя. Определяющая роль в этом процессе принадлежит обеспеченности растений минеральным питанием. В фазу кущения и формирования зерна помимо коэффициентов кущения определены и другие биометрические показатели характеризующие состояние растений озимой пшеницы.

Таблица 2.25. Перезимовка озимой пшеницы сорта Лира при обработке семян экстраасолом 55, %

Вариант	Растений в фазу полных всходов, шт/м ²	Растений после перезимовки, шт/м ²	Перезимовало растений, %
Контроль	452	440	97,3
Обработка семян Экстраасолом 55	364	352	96,7
Обработка семян витаваксом	344	316	91,8
N30P30 + N30 рано весной	348	324	93,1
N30P30 + N30 рано весной + обработка семян экстраасолом 55	360	348	96,6
N30P30 + N30 рано весной + обработка семян витаваксом	300	296	98,6

**Та
бл
иц
а
2.2
б.
Би
ом
етр
ич**

**еские показатели растений озимой пшеницы
в фазу кущения**

Вариант	Высота растений, см			Коэффициент кущения			Количество листьев, шт		
	контроль	экстраасол 55	витавакс	контроль	экстраасол 55	витавакс	контроль	экстраасол 55	витавакс
Без удобрений	21,5	22,9	21,6	3,1	3,9	3,6	7,3	10,6	10,2
N30P30+N30 рано весной	26,9	24,0	23,9	3,2	3,7	4,0	9,9	11,2	10,5
N30P60+N60 рано весной	27,7	25,2	27,8	2,7	2,7	2,9	8,7	8,7	9,3
N30P30K30+N30 рано весной +N20 в трубкование +N20 в колошение	23,9	21,7	21,7	2,8	2,6	2,7	7,8	7,6	7,7
N30P60K60+N60 рано весной +N40 в трубкование +N40 в колошение	27,0	23,8	26,9	2,8	3,1	2,9	9,3	11,1	9,5

Высота растений озимой пшеницы в фазу кущения зависела от доз внесенных минеральных удобрений как при обработке семян

экстрасолом 55 и витаваксом, так и без их обработки. Если оценивать влияние обработки семян экстрасолом 55 на высоту растений, то этот прием способствовал уменьшению высоты при применении минеральных удобрений на 2,2-3,3 см в сравнении с вариантами без обработки семян. В варианте без удобрений высота растений при обработке семян экстрасолом 55 была на 1,4 см выше, чем в варианте без обработки семян (табл.2.26).

Коэффициент кущения по вариантам изменялся от 2,6 до 4,0, но отметить четкое влияние способа обработки семенного материала при различных дозах удобрений сложно. Аналогическая ситуация складывалась и по изменению количества листьев на растениях озимой пшеницы.

В фазу формирования зерна растения озимой пшеницы достигли своей максимальной высоты. Высота растений озимой пшеницы по вариантам опыта изменялась от 73,2 до 93,0 см и определялась уровнем минерального питания. Коэффициент продуктивного кущения составил 1,1-1,6 и определяется уровнем минерального питания и обработкой семян как биопрепаратами, так и химическими средствами. Количество колосков в колосе изменялось от 15,6 до 18,0 и определялось дозами минеральных удобрений (табл. 2.27).

Таблица 2.27. Биометрические показатели растений озимой пшеницы в фазу формирования зерна

Вариант	Высота растений, см				Коэффициент продуктивного кущения			
	конт-роль	экстрасол 55	экстрасол 55 в трубокв , колоше н.	Вита-вакс	конт-роль	экстра-сол 55	экстра-сол 55 в трубокв , колоше н.	вита-вакс
Без удобрений	73,2	74,6	88,6	74,4	1,2	1,3	1,4	1,3
N30P30+N30 рано весной	94,8	91,7	84,2	90,8	1,3	1,6	1,6	1,5
N30P60+N60 рано весной	92,8	89,3	87,4	91,6	1,4	1,6	1,5	1,3
N30P30+N30 рано весной +N20 в колошение	86,2	81,3	84,2	88,	1,3	1,3	1,3	1,4
N30P60+N60 рано весной +N40 в колошение	88,1	91,1	88,4	90,2	1,4	1,2	1,5	1,3

N30P30K30+N30 рано весной +N20 в трубкование +N20 в колошение	87,9	83,4	81,3	84,6	1,3	1,2	1,1	1,2
N30P60K60+N60 рано весной+N40 в трубкование +N40 в колошение	93,0	93,2	92,5	92,7	1,2	1,3	1,4	1,3

Продолжение таблицы 2.27.

Вариант	Количество колосков в колосе, шт.			
	контроль	экстра- сол 55	экстрасол 55 в фазу трубков + колошение	витавакс
Без удобрений	16,1	15,6	15,9	15,6
N30P30+N30 рано весной	16,3	18,0	17,7	16,8
<i>N30P60+N60 рано весной</i>	17,0	17,2	17,6	17,4
N30P30+N30 рано весной +N20 в колошение	16,9	16,1	17,5	16,6
N30P60+N60 рано весной +N40 в колошение	16,2	17,4	17,4	17,0
N30P30K30+N30 рано весной +N20 в трубкование +N20 в колошение	17,2	17,5	16,8	17,2
N30P60K60+N60 рано весной +N40 в трубкование +N40 в колошение	17,6	17,0	17,2	17,4

Урожайность озимой пшеницы формируется под влиянием целого комплекса факторов. Путем воздействия на пищевой, водный, воздушный режимы можно значительно повысить продуктивность растений. Приемами, позволяющими повышать урожайность озимой пшеницы, являются применение удобрений и биологических средств, улучшающих условия питания.

Таблица 2.28. Влияние минеральных удобрений и препаратов на урожайность зерна озимой пшеницы сорта Лира, ц/га

Вариант	Конт роль	Экстр асол 55	Экстрасол 55 в трубкование	Экстрасол 55 в колошение	Экстрасол 55 в трубкование +колошение	Витава кс
Без удобрений	47,9	50,5	49,9	46,7	48,2	50,0
N30P30+N30 весной	53,8	55,7	64,7	60,0	58,7	53,1
<i>N30P60+N60 весной</i>	62,0	66,8	66,2	65,4	62,1	60,6
N30P30+N30 весной +N20 в колошение	61,2	66,0	64,5	62,5	61,2	58,9

	Без обработки семян		Экстрасол 55		Витавакс	
N30P60+N60 весной +N40 в колошение	66,8	71,3	67,3	66,4	64,4	62,3
N30P30K30+N30 весной +N20 в трубкавание +N20 в колошение	67,2	67,6	67,0	63,1	63,1	62,4
N30P60K60+N60 рано весной +N40 в трубкавание +N40 в колошение	71,5	70,5	69,8	66,3	64,4	66,1
НСР ₀₅ уд. 2,3		НСР ₀₅ реп. 1,8		НСР ₀₅ частн.разл. 5,6		

Использование биопрепарата экстрасол 55 оказало воздействие на урожайность озимой пшеницы (табл. 2.28). Оценивая действие биопрепарата экстрасол 55 в различных сочетаниях обработок года на величину урожая озимой пшеницы следует отметить, что достоверная прибавка от 1,9 до 10,9 ц с 1 га получена в вариантах с дозами N30P30 + N30 рано весной и N60P30 + N60 рано весной. При увеличении доз удобрений эффекта от экстрасола 55 не получено.

Качество зерна озимой пшеницы определяется как наследственными признаками, так и условиями ее возделывания. В опыте отмечено положительное влияние возрастающих доз удобрений на качество зерна озимой пшеницы (табл.2.29). В результате получено зерно отвечающее требованиям ГОСТ(а) III и IV классов качества. Четкого влияния обработки семян препаратом экстрасол 55 на изменение качества зерна не выявлено. Более эффективным приемом являлось внесение доз N20 и N40 в фазу колошения, при обязательном внесении удобрений под обработку почвы и ранневесенней подкормке, что подтверждается данными о влиянии азотного удобрения, полученными ранее А.Н.Павловым (1984).

По содержанию фосфора и калия в зерне озимой пшеницы выраженных различий по вариантам опыте не установлено. Содержание азота и фосфора в соломе при обработке семян экстрасолом 55 при всех дозах удобрений было несколько ниже, чем в вариантах без обработки. Содержание калия в соломе не связано со способами обработки семян и дозами вносимых удобрений.

	сырая клейко вина, %	качество клейковины		сырая клейко вина, %	качество клейковины		сырая клейко вина, %	качество клейковины	
		ИДК, ед.	груп па		ИДК, ед.	группа		ИДК, ед.	группа
Без удобрений	20,0	81	II	18,7	88	II	19,0	82	II
N30P30 + N30 весной	19,4	84	II	18,7	83	II	18,1	80	II
N30P30 + N60 весной	18,8	82	II	20,8	97	II	19,6	100	II
N30P30 + N30 весной + N20 в колошение	20,5	66	I	23,4	84	II	20,0	92	II
N30P60 + N60 весной + N40 в колошение	22,0	79	II	22,9	87	II	23,2	95	II
N30P30K30 +N30 весной + N20 в трубкова ние + N20 в колошение	23,6	83	II	22,8	79	II	20,8	77	II
N30P60K60 +N60 весной + N40 в трубкова ние + N40 в колошение	21,8	69	I	22,9	67	I	25,2	85	II

Таблица 2.29
·
Качество зерна озимой пшеницы сорта Лира

Таблица 2.30
·
Содержани

е подвижных форм элементов питания в слое почвы 0-30 см в фазу кушения озимой пшеницы, мг/кг

Вариант	N – NO ₃		P ₂ O ₅		K ₂ O	
	контроль	экстра сол 55	контроль	экстра сол 55	контроль	экстра сол 55
Без удобрений	2,9	11,5	145	138	639	657
N30P30+N30 весной	2,2	8,3	134	144	670	726
N30P60+N60 весной	8,7	10,5	86	86	531	587
N30P30K30+N30 весной + N20 в трубкование + N20 в колошение	3,8	6,6	50	51	431	431
N30P60K60+N60 весной + N40 в трубкование + N40 в колошение	4,5	5,1	54	48	444	426

В опыте определено также влияние биопрепарата и удобрений на содержание элементов питания в почве (табл.2.30-2.32). Обработка семян экстрасом 55 оказала положительное влияние на накопление нитратного азота в слое почвы 0-30 см в ранневесенний период. На содержание подвижного фосфора в почве в фазу кущения этот препарат не влиял, однако проявилась тенденция увеличения содержания в почве подвижного калия.

В фазу формирования зерна (табл.2.31) также отмечено слабое увеличение нитратного азота в почве от использования экстрасола, содержание подвижного фосфора, как правило, не изменялось и сохранилась тенденция повышения подвижного калия в почве. В фазу полной спелости зерна, отмеченные ранее различия между вариантами по содержанию элементов питания в почве, сглаживаются (табл.2.32).

Таблица 2.31. Содержание нитратного азота, подвижного фосфора и подвижного калия в слое почвы 0-30 см в фазу формирования зерна, мг/кг

Вариант	N – NO ₃			P ₂ O ₅			K ₂ O		
	контроль	экстрасол 55	вита-вакс	контроль	экстрасол 55	вита-вакс	контроль	экстрасол 55	витавакс
Без удобрений	2,2	1,5	1,6	184	198	123	868	860	553
N30P30+N30 весной	3,3	1,7	1,8	184	213	146	774	842	723
<i>N30P60+N60 весной</i>	2,0	1,3	1,8	118	112	99	647	621	574
N30P30+N30 весной + N20 в колошение	3,5	5,5	3,5	86	76	61	604	587	528
N30P60+N60 весной + N40 в колошение	4,1	7,8	4,9	68	63	62	528	481	494
N30P30K30+N30 весной +N20 в трубкавание +N20 в колошение	5,2	6,6	5,5	56	61	63	460	426	442
N30P60K60+N30 весной +N40 в трубкавание +N40 в колошение	6,2	6,6	6,9	51	52	47	394	403	360

Не отмечено существенных различий в содержании нитратного азота, общего фосфора и общего калия в листьях озимой пшеницы в фазу формирования зерна (табл.2.34).

Таблица 2.32. Содержание подвижных форм элементов питания в слое почвы 0-30 см в фазу полной зрелости зерна, мг/кг

Вариант	N – NO ₃			P ₂ O ₅			K ₂ O		
	контр- оль	экстра- сол 55	Вита- вакс	Конт- роль	экстра- сол 55	вита- вакс	конт- роль	экстра- сол 55	вита- вакс
Без удобрений	1,75	2,30	1,56	200	192	133	836	824	673
N30P30+	2,54	2,01	1,39	216	220	148	906	848	650
N30 весной									
N30P60+	1,97	1,24	1,75	122	124	116	673	627	580
N60 весной									
N30P30+	1,92	1,46	2,59	102	85	79	836	569	557
N30 весной +									
N20 в колошение									
N30P60+N60	2,21	7,40	2,16	60	73	64	522	499	464
весной + N40 в									
колошение									
N30P30K30+N30	4,90	3,20	2,01	69	63	53	441	430	402
весной+N20 в									
трубкование +N20									
в колошение									
N30P60K60+N30	2,21	5,10	6,60	52	54	44	374	402	345
весной+N40 в									
трубкование +N40									
в колошение									

Таблица 2.33. Содержание NPK в зерне озимой пшеницы в фазу полной зрелости, % абс. сухого вещества

Вариант	N			P ₂ O ₅			K ₂ O		
	контроль	экстрасол 55	Витавакс	Контроль	экстрасол 55	Витавакс	контроль	экстрасол 55	Витавакс
Без удобрений	1,98	1,89	1,78	0,92	0,95	0,98	0,65	0,67	0,72
N30P30+N30 весной	2,15	1,93	1,98	0,92	0,97	1,09	0,59	0,75	0,78
N30P60+N60 весной	1,83	2,04	1,89	0,95	0,96	0,94	0,67	0,67	0,65
N30P30+N30 весной	1,98	2,04	1,98	0,92	0,94	0,93	0,62	0,67	0,65
+ N20 в колошение									
N30P60+N60 весной	2,15	2,26	2,05	0,96	0,93	0,93	0,65	0,65	0,64
+ N40 в колошение									
N30P30K30+N30	2,10	2,16	2,10	0,94	0,94	0,93	0,64	0,68	0,64
весной +N20 в									
трубкование +N20 в									
колошение									

N30P60K60+N30 весной +N40 в трубкование +N40 в колошение	2,07	2,18	2,10	0,92	0,90	0,93	0,66	0,64	0,68
---	------	------	------	------	------	------	------	------	------

Таблица 2.34. Содержание элементов минерального питания в листьях озимой пшеницы в фазу формирования зерна, % аб. сухого вещества

Вариант	N – NO ₃			P ₂ O ₅			K ₂ O		
	контроль	экстрасол 55	витавакс	контроль	экстрасол 55	витавакс	контроль	экстрасол 55	витавакс
Без удобрений	2,56	2,86	2,81	0,68	0,66	0,69	1,34	1,25	1,16
N30P30+N30 весной	3,46	3,13	2,97	0,68	0,66	0,64	1,43	1,43	1,33
N30P60+N60 весной	3,37	3,21	3,21	0,66	0,61	0,67	1,51	1,42	1,33
N30P30+N30 весной + N20 в колошение	3,32	3,32	3,16	0,60	0,58	0,55	1,33	1,42	1,24
N30P60+N60 весной + N40 в колошение	3,26	3,32	3,26	0,61	0,62	0,59	1,24	1,51	1,33
N30P30K30+N30 вес-ной +N20 в трубкование +N20 в колошение	3,60	3,34	3,34	0,58	0,61	0,56	1,23	1,32	1,23
N30P60K60+N30 весной +N40 в трубкование +N40 в колошение	3,44	3,55	3,44	0,54	0,54	0,53	1,50	1,67	1,50

Таблица 2.35. Содержание NPK в соломе озимой пшеницы в фазу полной спелости, % абс. сухого вещества

Вариант	N			P ₂ O ₅			K ₂ O		
	контроль	экстрасол 55	витавакс	контроль	экстрасол 55	витавакс	контроль	экстрасол 55	витавакс
Без удобрений	0,33	0,22	0,44	0,27	0,18	0,26	2,07	1,77	1,71
N30P30+N30 весной	0,44	0,22	0,22	0,25	0,15	0,12	2,27	1,83	1,11
N30P60+N60 весной	0,33	0,28	0,39	0,16	0,13	0,16	1,67	1,67	1,53
N30P30+N30 весной + N20 в колошение	0,33	0,28	0,33	0,15	0,13	0,14	1,97	1,62	1,71
N30P60+N60 весной + N40 в колошение	0,33	0,28	0,15	0,13	0,10	0,09	1,77	1,50	1,67
N30P30K30+N30 весной +N20 в трубкование +N20 в колошение	0,24	0,26	0,42	0,12	0,11	0,16	2,13	1,75	1,80
N30P60K60+N30 вес-ной +N40 в трубкование +N40 в колошение	0,42	0,26	0,42	0,15	0,06	0,09	1,78	1,65	1,90

Таким образом, обработка семян экстразолом 55 оказала положительное воздействие на растения озимой пшеницы в осенний период. Количество перезимовавших растений превысило 96%. Коэффициент продуктивного кущения и количество колосков в колосе определялись дозами минеральных удобрений и обработкой экстразолом 55. Достоверная прибавка урожая от 1,9 до 10,9 ц с I га получена от обработок препаратом экстразол 55 в вариантах с дозами N30P30+N30 рано весной и N30P60+N60 рано весной. При увеличении доз удобрений эффект от действия экстразола 55 не получен. Четкого влияния обработки семян препаратом 55 на изменение качества зерна озимой пшеницы не выявлено, которое соответствует III и IV классам.

В полевом опыте, проведенном в Научно-исследовательском институте полевых культур Республики Молдова, на черноземе, характеризующемся средним содержанием подвижных форм фосфора и калия, определяли эффективность экстразола- 55 на озимой пшенице сорта Думбрэвица. Испытывали препарат экстразол 55 при обработке вегетирующих растений в фазу появления флагового листа в дозе 3 л/га. Поскольку биопрепарат обладает антифунгицидным действием, определяли в динамике пораженность растений мучнистой росой, бурой ржавчиной и септориозом в сравнении с химическим препаратом тилт-премимум, которым опрыскивали растения в фазу появления флагового листа в дозе 0,33 кг/га.

Через неделю после обработки посевов озимой пшеницы обоими препаратами существенно снизилось распространение и развитие мучнистой росы, то же самое прослеживалось через две и три недели после обработки (табл. 2.36). Однако, если в течение двух недель эффективность химического и биологического препаратов была одинаковой, то через три недели экстразол по влиянию на мучнистую росу превосходил тилт-премимум.

Таблица 2.36. Влияние препаратов на поражение растений озимой пшеницы болезнями, %

Вариант	Через неделю после обработки		Через две недели после обработки		Через три недели после обработки	
	Распространение	развитие	распространение	развитие	распространение	развитие
Мучнистая роса						
1.Контроль	68,5	20,1	44,0	12,7	12,0	4,0
2.Тилт-премимум	18,0	4,5	14,5	3,6	10,0	3,0
3.Экстразол 55	17,7	4,0	14,2	3,5	2,5	0,6
Бурая ржавчина						
1.Контроль	38,0	10,3	31,0	7,6	24,0	6,0
2.Тилт-премимум	21,0	6,2	20,0	5,0	8,0	2,0
3.Экстразол 55	18,0	4,5	4,0	1,0	0	0
Септориоз						

1.Контроль	44,0	1,03	26,5	6,7	12,0	3,0
2.Тилт-премиум	29,0	6,0	7,5	1,8	6,0	1,5
3.Экстрасол 55	0	0	0	0	0	0

Эффективность биопрепаратов против бурой ржавчины через неделю после обработки посевов была одинаковой, а через две недели после обработки и, особенно, через три недели действие биопрепарата превосходило химический препарат по влиянию на распространение и развитие этого заболевания.

Особенно явно действовал экстрасол 55 на пораженность растений озимой пшеницы септориозом (табл. 2.36). Его действие начинало проявляться уже через неделю и сохранялось в течение всего периода вегетации, при этом, биопрепарат превосходил тилт-премиум.

Снижение заболевания растений озимой пшеницы в результате использования биологического и химического препаратов положительно отразилось на урожайности зерна и показателях его качества. Так, сбор зерна возрос на 2,9-7,4 ц/га, при этом прибавка от экстрасола 55 превосходила химический стандарт в 2,5 раза (табл. 2.37).

Таблица 2.37. Изменение урожайности озимой пшеницы и показателей качества под действием препаратов

Вариант	Сбор зерна, ц/га	Прибавка, ц/га	Содержание сырой клейковины, %	ИДК клейковины, ед.
1.Контроль	54,0	-	23,4	>120
2.Тилт-премиум	56,9	2,9	26,9	120
3.Экстрасол 55	61,4	7,4	30,9	120
P, %	1.6			
НСР ₀₅	2.8			

Улучшение условий для фотосинтеза обеспечивает более эффективное функционирование ассимиляционного аппарата [Павлов 1967], в результате чего в зерне накопилось большее количество клейковины (табл. 2.37). При этом, если на контроле без использования препаратов по содержанию сырой клейковины зерно соответствовало группе филлеры (среднее), то при использовании тилта-премиум оно относится к ценным, а при обработке посевов экстрасолом сильное [Казарцева и др., 2004]. Однако, качество клейковины по показателю ИДК во всех вариантах соответствовало слабому.

И так, обработка посевов биопрепаратом комплексного действия экстрасол 55 в результате снижения заболевания растений способствует увеличению урожайности зерна озимой пшеницы и повышению накопления в нем сырой клейковины.

2.3. Озимая рожь

В мелкоделяночном опыте, проведенном в Республике Татарстан (Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства), было установлено, что обработка вегетирующих растений препаратом экстрасол перед цветением имела положительное воздействие на снижение поражения растений спорыньей у всех изучаемых сортах, кроме сорта Безенчугская 87 (табл. 2.38). При поражении озимой ржи спорыньей на колосьях выделяется клейкая жидкость, которая называется также «медвяной росой». На пораженные растения привлекаются насекомые, которые в последующем осуществляют новое или повторное заражение растений этим грибковым заболеванием. Для предотвращения заболеваний растений озимой ржи, обычно проводится опрыскивание посевов химическими средствами, возможно также использование биологических препаратов, например группы экстрасол.

Таблица 2.38. Пораженность сортов озимой ржи спорыньей, шт./2кв.м

Вариант	Татарская 1	Эстафета Татарстана	Радонь	Огонек	Анта рес	Безенчугская 87
1.Контроль	4	8	9	6	5	6
2.Экстрасол (перед цветение)	2	0	3	5	2	9
3.Экстрасол (семена+перед цветением)	2	4	3	6	8	5
4.Премис 200 (на семена)	0	4	0	4	10	7

Допосевная обработка семян и опрыскивание растений перед цветением биопрепаратом экстрасол 55 имело примерно такое же действие, как только одна обработка вегетирующих растений биопрепаратом на сортах Татарская 1, Радонь и Огонек.

Использование химического протравителя семян Премикс 200 положительно сказалось на гибели спорыньи на четырех из 6 изучаемых сортов озимой ржи.

В другом мелкоделяночном опыте оценивали так же эффективность отдельных штаммов бактерий, которые могут быть в дальнейшем использованы для производства биопрепарата (табл. 2.39). Исследования показали, что все испытываемые штаммы обладают антифунгицидным действием, при этом действие отдельных штаммов по разному проявляется на отдельных сортах. Так, наибольшей эффективностью на всех сортах

характеризуются штаммы ВС 4-14 и КР 076, где получена минимальная пораженность растений спорыньей. На сорте Безенчугская 87 штаммы КР 228 и КР 083 были не эффективны.

Полученные результаты в мелкоделяночном опыте были проверены в условиях полевого опыта на посевной площади делянки 100 кв. м. Весной, после схода снега проводили учет перезимовавших растений и пораженность их снежной плесенью. Поскольку при сложившихся погодных условиях не происходило сильного промерзания почвы, создались благоприятные условия для развития комплекса грибных болезней, доминирующее значение занимали снежная плесень, встречались пораженные растения склеротинией, тифулезом и цероспореллезом.

Таблица 2.39. Эффективность обработки посевов различных сортов озимой ржи штаммами бактерий против спорыньи, шт./2 кв. м

Вариант	Татарская 1	Эстафета Татарстана	Радонь	Огонек	Антарес	Безенчугская 87
1.Контроль	4	8	9	6	5	6
2.КР 228	2	0	3	5	2	9
3.КР 076	2	3	0	1	0	2
4.КР 083	1	3	2	4	4	15
5.ВС 4-14	0	0	1	1	0	1

Действие биопрепарата экстрасол 55 на перезимовку растений озимой ржи в большей степени проявилось на сорте Эстафета Татарстана, который занимает максимальные посевные площади. У растений этого сорта при обработке семян экстрасолом сохранилось 4,8 побега кущения на одно растение по сравнению с 3,6 побегами на необработанных растениях и 4,2 обработанным химическим протравителем. На этом сорте и сорте Огонек было минимальное отмирание побегов при обработке семян экстрасолом 55.

В опыте установлено, что использование биопрепарата экстрасол 55 оказывает положительное действие на перезимовку растений озимой ржи (табл. 2.40).

Таблица 2.40. Влияние экстрасола 55 и премикса 200 на гибель растений за перезимовку и пораженность сортов озимой ржи болезнями

Вариант	Татарская 1	Эстафета Татарстана	Радонь	Огонек	Антарес	Безенчугская 87
Количество побегов, шт./растение						

1.Контроль	4,0	3,6	4,8	3,1	3,8	3,4
2.Экстрасол 55	4,3	4,8	4,4	3,6	3,0	3,3
3. Премикс 200	5,0	4,2	3,5	3,2	3,3	4,3
Количество погибших побегов, шт./растение						
1.Контроль	2,0	0,4	1,0	2,3	0,8	0,7
2.Экстрасол 55	1,6	0,1	1,5	0,8	0,9	2,2
3. Премикс 200	0,7	0,4	1,0	1,3	1,4	1,0
Развитие снежной плесени, %						
1.Контроль	80	64	70	76	68	70
2.Экстрасол 55	56	54	56	64	68	68
3. Премикс 200	54	62	69	67	72	62

Из пяти районированных сортов отмечено снижение развития снежной плесени по сравнению с необработанным контролем. На сорте Антарес действия препарата не получено. На сортах Эстафета Татарстана, Радонь и Огонек биологический препарат экстрасол 55 дает более значимое снижение заболевания по сравнению с химическим протравителем Премис 200.

Таким образом, в результате оценки эффективности биопрепарата экстрасол 55 установлена его положительное действие на перезимовку озимой ржи и снижение пораженности растений грибными болезнями. В большей степени реагировал на обработку семян биопрепаратом сорт озимой ржи Эстафета Татарстана, что выразилось в повышении устойчивости растений к снежной плесени, снижении гибели побегов кущения.

2.4. Ячмень

На маломощном черноземе среднесуглинистом в Костанайской области Казахстана изучали эффективность различных препаратов на ячмене, выращиваемым по принятой в регионе агротехнологии. Предшественником ячменя была яровая пшеница. Обработка семян биопрепаратом экстрасол 55 оказала положительное влияние на показатели всхожести семян ячменя (табл.2.41). Так, энергия прорастания семян и лабораторная всхожесть увеличились на 2,0% по сравнению с контролем (без обработки) и была практически на одном уровне с эталоном (гумат натрия).

Таблица 2.41. Влияние обработки семян экстрасолом на всхожесть семян ярового ячменя и выживаемость растений

Вариант	Лабораторные, %		Полевая всхожесть		Сохранность к уборке	
	энерг прорастания	всхожесть	шт./м ²	%	шт./м ²	%
Контроль (без обработки)	85	89	268	76	247	92

Гумат натрия 30% р.п.(семена)	88	92	281	80	267	95
Дивиденд 3% к.с.	78	86	265	75	259	98
Экстрасол 55 (обработка семян)	87	91	280	80	266	95
Экстрасол 55 (опрыскивание в трубкование)	-	-	268	76	263	98
Тилт-премиум 37,5% с.п. (колошение 0,33 л/га)	-	-	268	76	268	100

По сравнению с другим эталоном (дивиденд 3% к.с.) получены еще большие различия: соответственно 9% по энергии прорастания и 5% по всхожести семян. Связано это с подавляющим действием протравителя семян дивиденда на всхожесть семян.

В полевых условиях показатели всхожести были значительно ниже, что связано с неблагоприятными погодными условиями в начале вегетации (позднее весенне-ранняя летняя засуха). При неблагоприятных погодных условиях максимальная полевая всхожесть семян получена по биопрепаратам гумат-натрия и экстрасол 55 (соответственно 80,0 и 80,3%), что выше контроля на 4,3-4,7%. В полевых условиях также отмечено слабое отрицательное действие протравителя дивиденд на показатель всхожести, а также угнетение ростовых процессов в период прорастания-всходы.

Сохранность растений к уборке по вариантам обработки семян биопрепаратами была на одном уровне 95%. Несколько выше сохранность растений при обработке посевов ячменя в фазу трубкования, она составила 98%. Абсолютные показатели сохранности (100%) отмечены в опыте на варианте применения фунгицида тилт-премиум за счет более эффективного подавления болезнетворной микрофлоры.

Применение биопрепарата оказало положительное влияние на рост и развитие ячменя в течение вегетации (табл.2.42). Обработка семян биопрепаратами позволила увеличить массу проростков в лабораторных условиях (10 день проращивания) на 16,7-20%. В опыте отмечено, что действие биопрепаратов более эффективно в начальный период развития растений. Так, в фазу кущения ячменя воздушно сухая масса надземной части растений при применении биопрепаратов была выше контроля на 17,4-13,8%. Развитие корневой системы также лучше по биопрепаратам, на 18,2-21,2% по отношению к контролю.

Таблица 2.42. Динамика биомассы растений, г/м²

Сырая масса	Воздушно-сухая масса		
	кущение	цветение	перед уборкой

		надземная часть	корни	надземная часть	корни в пахотном слое	надземная часть	корни в пахотном слое
Контроль	1,5	34,9	3,3	350	110	300	100
Гумат натрия 30% р.п.	1,8	41,8	4,0	400	126	350	110
Экстрасол 55 (обработка семян)	1,75	41,0	3,9	400	128	350	111
Экстрасол 55 (опрыскивание)	-	34,9	3,3	370	116	320	108

В фазу цветения различий между препаратами гумат натрия и экстрасол не было, а также уменьшилось отклонение от контроля, по надземной воздушно сухой массе оно составило 14,2%. К концу вегетации на биомассе надземной и подземной части растений биопрепараты были на одном уровне, но выше контроля, соответственно на 14,2 и 10-12%. Применение экстрасола на посевах ячменя в фазу трубкования, также способствовало накоплению биомассы, хотя и в меньшей степени, чем при обработке семян. К концу вегетации на этом варианте надземная масса превышала контроль на 6,3%, по корневой системе на 8%.

Одним из показателей обеспеченности растений элементами питания служит содержание в них азота (табл. 2.43).

Таблица 2.43. Влияние обработки семян пшеницы экстрасолом 55 на содержание азота в растениях, % на сухое в-во

Вариант	Кущение	Цветение
Контроль (без обработки)	3,5	1,2
Гумат натрия 30% р.п.	3,8	1,4
Экстрасол 55	3,7	1,5

При использовании гумата натрия и экстрасола возросло содержание азота, причем положительная тенденция прослеживается в течение всей вегетации. Если в фазу кущения по содержанию азота экстрасол 55 незначительно уступал гумату натрия, то в фазу цветения, за счет азотофиксирующих бактерий в ризосфере ячменя отмечено его превышение над гуматом натрия. Еще большие отклонения по содержанию азота в растениях при применении экстрасола по отношению к контролю получены в фазу цветения.

Из болезней ячменя, вызываемых аэрогенной инфекцией, наибольшее развитие имела темно-бурая пятнистость (табл. 2.44). Обработка

вегетирующих растений экстрасолom ограничивала степень поражения листьев ячменя этим заболеванием. Биологическая эффективность составила 33,3% в фазе цветения. Различия в развитии заболевания прослеживались и в фазе молочной спелости зерна (37,5% - биологическая эффективность). От фунгицида тилта-премиум эффективность была в 2 раза выше. Однако, биопрепарат экстрасол хотя и обладал меньшей эффективностью, но имел стимулирующее действие на растения. В итоге по биопрепарату экстрасол 55 была получена существенная прибавка урожайности зерна. Стеблевая ржавчина сильного распространения и развития не получила. При небольшой инфекционной нагрузке возбудителя стеблевой ржавчины значительных различий в распространении болезни на контроле и варианте с экстрасолom не обнаружено.

Таблица 2.44. Распространение и развитие болезней, вызываемых аэрогенной инфекцией, в зависимости от обработки посевов препаратами

Цветение					
Вариант	тёмно-бурая пятнистость			Биологическая эффективность	
	распространение	развитие			
Контроль	100	12,0		К	
Экстрасол 55 (1л/га семена)	100	11,0		8	
Экстрасол 55(2л/га трубкование)	100	8,0		33,3	
Тилт-премиум 37,5% (колошение 0,33л/га)	100	4,0		67,0	
Молочная спелость					
Вариант	тёмно-бурая пятнистость			стеблевая ржавчина	
	распростра- нение	развит ие	биологическая эффективность	распростра- нение	биологическа я эффективност ь
Контроль	100	40	К	34,0	К
Экстрасол 55 (1л/га семена)	100	40	0	34,0	0
Экстрасол 55 (2л/га трубкование)	100	25	37,5	30,0	12,0
Тилт-премиум 37,5% (колошение 0,33л/га)	100	7,9	80,3	4,0	88,2

Таблица 2.45. Распространение и развитие болезней ячменя, вызываемых почвенной и семенной инфекцией

Вариант	Плесневение семян и проростков	Биол. эффективность	Корневые гнили				
			кущение			молочная спелость	
			распространение	развитие	биологическая эффективность	распространение	развитие
Контроль	41	К	37,1	14,6	К	33,1	19,8
Гумат натрия (семена)	38	7,3	33,0	11,2	23,3	32,2	17,3
Экстрасол (семена)	19	53,7	19,0	8,5	41,8	30,0	15,7
Дивидент 3% к.с.	8	76,0	12,1	3,0	67,4	25,8	13,4
Экстрасол (трубков.)	-	-	-	-	-	30,3	15,0
Тилт премиум 37,5	-	-	-	-	-	27,3	12,9

Обработка семян экстразолом способствовала оздоровлению семян и проростков от плесневения (табл. 2.45). Биологическая эффективность биопрепарата составила 53,7%. Этот показатель уступает дивиденду 3% к.с. (76,0%), однако явно прослеживается положительное значение для развития проростков. Биомасса растений, обработанных экстразолом оказалась выше. Предпосевная обработка семян экстразолом 55 ограничивала развитие и распространение корневой гнили. Биологическая эффективность экстрасола против корневой гнили ячменя достигла 41,8%. Даже на варианте с обработкой гуматом натрия снизилась пораженность за счет роста устойчивости. Экстрасол уступал по эффективности дивиденду.

Использование биопрепарата экстрасол 55 для обработки семян и опрыскивания посевов оказало положительное влияние на урожайность зерна ячменя (табл.2.46).

Таблица 2.46. Влияние препаратов на урожайность и качество зерна ячменя

Вариант	Урожайность ц/га	Прибавка		Сырой белок, %
		ц/га	%	
Контроль (без обработки)	20,0	-	-	
Гумат натрия 30% р.п. (0,75кг/га)	22,5	2,5	12,5	12,3
Экстрасол 55 (1 л/т семян)	22,1	2,1	10,5	12,5
Дивидент 3% (2 кг/т семян)	22,8	2,8	14,0	11,4
Экстрасол 55 (2 л/т трубков.)	21,8	1,8	9,0	11,8
Тилт-премиум 37,5% с.п. (0,33 л/га колошение)	23,1	3,1	15,5	11,6

НСР₀₅

1,8

Урожайность 22,8 ц/га получена при применении протравителя дивиденд 3% к.с. Среди биопрепаратов выделяется гумат натрия для предпосевной обработки семян. Незначительно уступал этому препарату экстрасол 55, с урожайностью 22,1 ц/га, отклонения от контроля составили 2,1 ц/га при НСР₀₅ 1,8 ц/га. Менее эффективно опрыскивание посевов ячменя экстрасолом в фазу трубкования, прибавка урожая составила 1,8 ц/га или 9,0%. При этом прибавка от фунгицидной обработки тилтом составила 3,1 ц/га или 15,5%.

Биометрические показатели урожая ячменя (табл. 2.47) в целом подтверждают урожайные данные. Прибавки урожая по биопрепаратам получены в результате повышения густоты стеблестоя (колосоносных стеблей) за счет высокой всхожести и продуктивной кустистости. Прибавки урожайности по протравителю семян дивиденд и фунгициду тилт-премиум получены за счет повышения числа колосков в колосе до 14,1 - 15,0 штук и число зерен до 25,4-27 штук.

Таблица 2.47. Структура урожая ярового ячменя при использовании различных препаратов

Вариант	Кустистость		Высота растений, см	Длина колоса, см	Число колосков в колосе шт	Озерненность колоса, шт
	общая	продуктивная				
Контроль (без обработки)	1,5	1,2	59,3	6	12,0	21,6
Гумат натрия 30% р.п.	1,6	1,3	62,2	6,5	12,8	23,0
Экстрасол 55 (семена)	1,6	1,3	62,0	6,5	12,6	22,7
Дивиденд 3% (семена)	1,4	1,1	59,1	7	14,0	25,4
Экстрасол 55 (опрыскивание в трубков.)	1,5	1,2	60,9	6,2	12,2	22,0
Тилт-премиум 37,5%	1,5	1,2	62,4	7,7	15,0	27,0

Следовательно, в условиях поздней весенней и ранней летней засухи применение биопрепарата экстрасол 55 для обработки семян (1 л/т) снизило стрессовое воздействие неблагоприятных погодных условий на растения (полевая всхожесть увеличилась на 3,3%). Обработка посевов ячменя в фазу трубкования (2 л/га) способствовало росту выживаемости растений в течение вегетации (сохранность растений к уборке превысила контроль на 3%). Биопрепарат экстрасол 55 проявил росторегулирующие свойства, оказав

влияние на накопление биомассы, особенно заметно в начальный период развития. Масса проростков увеличилась на 16,7% надземная биомасса в фазу кущения 17,5% и фазу цветения - на 14,3% по сравнению с контролем. Также отмечено стимулирующее воздействие экстрасола на рост и развитие корневой системы ячменя. Масса зародышевых корней увеличилась на 18,2%, узловых на 12 - 16,4%. Опрыскивание посевов ячменя в фазу трубкования способствовало увеличению надземной фитомассы к уборке на 6,7% и подземной биомассы на 8%. Биологическая эффективность препарата экстрасол против плесневения семян и проростков составила 53,7%, корневой гнили - 41,8% при обработке семян (1 л/т). При опрыскивании посевов в фазу трубкования (2 л/г) биологическая эффективность против темно-бурой пятнистости составила 37,5%. Обработка семян препаратом экстрасол 55 способствовала увеличению продуктивности ячменя по сравнению с контролем. Хозяйственная эффективность препарата составила 10,5%. Применение экстрасол 55 по вегетирующим растениям в фазу трубкования увеличило сбор зерна на 1,8 ц/га, при этом хозяйственная эффективность составила 9,0%.

Определение содержания белка в зерне ячменя показало положительное действие экстрасола на этот показатель. При использовании препарата экстрасол 55 установлено положительное влияние на всхожесть, рост и развитие ярового ячменя, что способствовало накоплению биомассы растений, кроме того, в опыте отмечено подавление биопрепаратом потагенной микрофлоры (плесневение, распространение и развитие корневых гнилей и болезней, вызываемых листостебельными инфекциями).

В результате производственных испытаний полевая всхожесть семян ярового ячменя увеличилась на 2,3%. Снизилась пораженность корневыми гнилями. Биологическая эффективность составила 52%. Обработка вегетирующих растений экстрасолом-55 ограничила степень поражения растений, вызываемых аэрогенными инфекциями. Биологическая эффективность составила: против темно-бурой ржавчины 45-50%, против стеблевой ржавчины 46%. В итоге благодаря применению биопрепарата экстрасол-55 была получена существенная прибавка урожая ярового ячменя - 3,64 ц/га, что составляет 14% от уровня контроля, где урожайность достигла 26 ц/га. Кроме того, в результате использования экстрасола 55 отмечено улучшение показателей качества зерна ярового ячменя. Повышение содержания белка по отношению к контролю увеличилась 11,4 до 12,8%.

Результаты производственных испытаний эффективности применения биопрепарата экстрасол 55 показали перспективность его

использования для предпосевной обработки семян с нормой расхода 1л/т и для опрыскивания в течении вегетации с нормой расхода 2л/т при выращивании ярового ячменя с целью стимулирования роста растений и повышения их устойчивости к болезням (табл.2.48-2.50).

Таблица 2.48. Распространение и развитие болезней ячменя, вызываемых почвенной и семенной инфекцией в производственном опыте, %

Вариант	Плесневение семян и пропустников		Корневые гнили в кущение		
	распространение	биологическая	распространение	развитие	биологическая эффективность
Контроль	42	К	39,9	15,1	К
Экстрасол (семена)	20	52,4	20,6	7,2	52,3

Таблица 2.49. Распространение и развитие болезней вызываемых аэрогенной инфекцией в зависимости от обработки посевов ярового ячменя препаратом экстрасол 55 в производственном опыте

Вариант	В фазе цветения			В молочную спелость				
	темно-бурая пятнистость			темно-бурая пятнистость			стеблевая ржавчина	
	распространение	развитие	биологическая эффективность	распространение	развитие	биологическая эффективность	распространение	Биологическая эффективность
Контроль	100	12,5	К	100	44	К	37	К
Экстрасол-55 (2 л/га трубкавание)	100	6,9	44,8	100	22	50	20	45,9

Таблица 2.50. Влияние биопрепаратов на урожайность и качество зерна ячменя в производственном опыте

Вариант	Урожайность зерна, ц/га	Прибавка		Сырой белок, %
		ц/га	%	
Контроль (без обработки)	26,0	-	К	12,2
Экстрасол-55 (1л/т семена + 2л/т трубкавание)	29,6	3.6	14	12,8

В полевом опыте в степной слабоволнистой предгорной равнине КБР на черноземе обыкновенном среднегумусном среднемощном, пахотный слой почвы имел среднее содержание гумуса (по Тюрину) - 5,4-6,0%, нейтральную реакцию почвенной среды ($pH_{KCl}=7,2-7,5$), среднее содержание подвижного фосфора (по Мачигину) - 13,5-15,1 мг/кг и подвижного калия (по Мачигину) - 204-245 мг/кг изучали в течение трех лет эффективность экстрасола 55 и в качестве стандарта использовали два других биопрепарата. Ризоагрин создан на основе штамма, относящегося к роду *Agrobacterium radiobacter*, штамм 204. Штамм характеризуется рядом преимуществ: образуют активные ассоциации между растениями и микроорганизмами, способен фиксировать атмосферный азот и переводить его в легко усваиваемую растениями форму азотсодержащих соединений. Высокая конкурентноспособность по отношению к фитопатогенным грибам повышает устойчивость растений к болезням. В одном грамме торфяного препарата содержится 8-12 млрд. клеток бактерий. Штамм хорошо приживается в ризосфере пшеницы, риса и других зерновых и кормовых злаковых трав. Флавобактерин создан на основе штамма, относящегося к роду *Flavobacterium sp*, штамм 30. В 1 грамме торфяного препарата содержится 5-6 млрд. клеток бактерий данного штамма. Отличительной особенностью препарата является его широкий спектр действия: положительные результаты получены в посевах пшеницы, риса, сорго кормовых злаковых трав, картофеля. Механизм положительного действия препарата определяется способностью бактерий использовать молекулярный азот, стимулировать рост, продуцировать фитогармоны, улучшать минеральное питание, водный обмен и активизировать физиологические процессы растений.

Погодные условия вегетационных период 2002 г. и 2004 г. были в целом благоприятными для растений ячменя (достаточное количество атмосферных осадков при температуре воздуха превышающей среднемноголетнее значение) и только в 2003 г. испытывался их недостаток. Такие погодные условия отразились на продуктивности ячменя: сбор зерна в 2002 и 2004 г.г. был получен несколько больше, чем в 2003 г., когда испытывался дефицит атмосферных осадков.

При изучении эффективности инокуляции семян биопрепаратами установлено (табл. 2.51), что в первый год при погодных условиях близких к среднемноголетнему значению в период вегетации, все препараты увеличивали урожайность зерна ячменя на 16-27%. Эффект от ризоагрина и флавобактерина соответствовал внесению под ячмень N30, а экстрасол 55 превышал азотное удобрение. На фоне внесения под ячмень азотного удобрения в дозе 30 кг/га все изучаемые биопрепараты обеспечили

увеличение урожайности зерна ячменя, при этом действие ризоагрина и экстрасола 55 было равным, а эффективность флавобактерина превосходила первые два препарата. Инокуляция семян ризоагрином и экстрасолом 55 на фоне применения под ячмень азотного удобрения в дозе 30 кг/га соответствовала допосевному внесению N60, а флавобактерин превосходил внесение этой дозы.

В 2003 г., когда погодные условия были менее благоприятными для ячменя, все биопрепараты равноценно увеличили урожайность зерна на 2,8-3,3 ц/га. Относительное повышение урожая от биопрепаратов (13-15%) было меньше по сравнению с предыдущим годом, но действие биопрепаратов соответствовало внесению азотного удобрения в дозе 30 кг/га. При некотором дефиците атмосферных осадков в период вегетации ячменя увеличение доз азотного удобрения не эффективно, положительно не влияли на урожай в этих условиях и биопрепараты.

В третий год опыта при достаточном количестве атмосферных осадков в период вегетации при инокуляции семян всеми биопрепаратами дополнительно получено 6,8 - 8,3 ц/га зерна ячменя прибавка составила 22-27%. Азотное удобрение в дозе 30 кг/га превышало эффективность ризоагрина, но соответствовало действию флавобактерина и экстрасола 55. На фоне азотного удобрения от инокуляции семян биопрепаратами не получено прибавок урожая зерна, отсутствовала она от увеличения дозы с 30 до 60 кг/га.

Таблица 2.51. Влияние удобрений и биопрепаратов на урожайность зерна ячменя

Вариант	Урожайность по годам, ц/га				Среднегодовая прибавка зерна от					
	2002	2003	2004	Ср.	всего		N-удобрения		инокуляции	
					ц/га	%	ц/га	%	ц/га	%
1. P30- фон 1 (Ф1)	19,8	21,5	30,4	23,9	-	-	-	-	-	-
2. Ф1+ризоагрин	23,0	24,5	37,2	28,2	4,3	18	-	-	4,3	18
3. Ф1+флавобактерин	24,4	24,8	38,4	29,2	5,3	22	-	-	5,3	22
4. Ф1+экстрасол 55	25,2	24,3	38,7	29,5	5,6	23	-	-	5,6	23
5. N30P30- фон 2 (Ф2)	23,4	24,6	39,8	29,3	5,4	22	5,4	22	-	-
6. Ф2+ризоагрин	27,2	26,3	38,4	30,6	6,7	28	5,4	22	1,3	6
7. Ф2+флавобактерин	28,2	25,4	39,7	31,1	7,2	30	5,4	22	1,8	8
8. Ф2+экстрасол 55	26,4	25,7	37,9	30,0	6,1	26	5,4	22	0,7	4
9. N60P30	26,5	26,4	38,9	30,6	6,7	28	6,7	28	-	-
P, %	1,9	2,9	1,8	2,2						
НСР ₀₅ , ц/га	1,4	2,1	1,8	1,7						

В среднем за 3 года от всех биопрепаратов прибавки урожая зерна составили 4,3-5,6 ц/га (18-23%), что соответствовало внесению под ячмень азотного удобрения в дозе 30 кг/га. Увеличение дозы азотного удобрения с 30 до 60 кг/га не повысило урожайность зерна ячменя, что возможно, связано с какими то другими элементами агротехнологии, ограничивающими эффективность азотного удобрения [Кирюшин, 2000]. Применение только флавобактерина для инокуляции семян на фоне N30 увеличило урожайность зерна ячменя, что возможно, связано с более сильным антипатогенным действием этого биопрепарата [Волков, 2003].

Биопрепараты в меньшей степени, чем азотное удобрение повышали массу соломы ячменя, что отразилось на значении хозяйственного коэффициента. В результате применения азотного удобрения наметилась тенденция к снижению значения хозяйственного коэффициента, а при инокуляции семян биопрепаратами - к увеличению доли зерна, что свидетельствует о полифункциональном действии на растения микроорганизмов, входящих в состав биопрепаратов [Кравченко, 2000, Шабаев, 2004].

При внесении азотного удобрения в дозах 30 и 60 кг/га в зерне ячменя увеличивается с 11 до 13% содержание сырого белка (табл.2.52). При обработке семян биопрепаратами комплексного действия имеет место слабая тенденция увеличения по сравнению с фоном P30 содержания в зерне сырого белка, но это увеличение меньше, чем от внесения в предпосевную культивацию азотного удобрения в дозе 30 кг/га. Действие ризоагрина, флавобактерина и экстрасола 55 на накопление в зерне сырого белка примерно эквивалентно. При использовании биопрепаратов увеличивается урожайность зерна, но в почве, видимо, имеет место дефицит доступных для растений форм азота, в результате чего не происходит увеличения его белковости. При посеве семян, обработанных биопрепаратами комплексного действия, на фоне с внесением азотного удобрения в дозе 30 кг/га содержание в зерне сырого белка не изменялось и соответствовало внесению азотного удобрения в дозе 60 кг/га и полученный урожай пригоден для кормовых целей.

При внесении азотного удобрения, особенно в дозе 60 кг/га в зерне ячменя по сравнению с P30 снижается содержание крахмала, делая его не пригодным для пивоварения. При обработке семян биопрепаратами ризоагрин, флавобактерин и экстрасол 55 содержание крахмала в зерне ячменя не снижается по сравнению с фоном P30 и остается таким же, как фоне с внесением азота в дозе 30 кг/га.

Таблица 2.52. Содержание в зерне сырого белка при внесении удобрений и использовании биопрепаратов, %

Вариант	Сырой белок, %				Среднее за 3 года		
	2002 г.	2003 г.	2004 г.	сред.	масса 1000 зерен, г	содержание, %	
						P ₂ O ₅	K ₂ O
1. P30- фон 1 (Ф1)	12,0	11,3	9,8	11,0	46,1	0,53	0,47
2. Ф1+ризоагрин	12,4	11,6	10,3	11,4	47,4	0,54	0,47
3. Ф1+флавобактерин	12,9	12,0	10,5	11,8	47,6	0,57	0,48
4. Ф1+экстрасол 55	12,2	12,1	10,5	11,6	48,2	0,54	0,50
5. N30P30-фон 2 (Ф2)	12,9	13,0	11,2	12,4	45,8	0,53	0,47
6. Ф2+ризоагрин	12,9	13,1	11,6	12,5	47,3	0,54	0,49
7. Ф2+флавобактерин	13,1	13,2	11,8	12,7	47,4	0,58	0,52
8. Ф2+экстрасол 55	12,8	12,4	12,0	12,4	47,5	0,59	0,52
9. N60P30	13,7	13,3	12,1	13,0	46,5	0,57	0,50

При использовании ризоагрина, флавобактерина и экстрасола 55 на фоне P30 масса 1000 зерен возрастала с 46,1 г до 47,4-48,2 г, или на 4%, на фоне N30P30 с 45,8 г до 47,3-47,5 г, или на 3%, что можно рассматривать лишь только как тенденцию

Не зависимо от фона минеральных удобрений, обработка семян флавобактерином и на фоне N30P30 экстрасолом 55 обеспечивала тенденцию увеличения концентрации фосфора в зерне, что свидетельствует об улучшении фосфорного питания растений за счет использования микроорганизмов. Биопрепараты не изменяли концентрацию калия в зерне ячменя, однако, при увеличении урожайности основной и побочной продукции не происходит ростового разбавления калия в зерне, что свидетельствует о положительной роли в питании растений микроорганизмов, входящих в состав биопрепаратов.

При обработке семян препаратами комплексного действия (ризоагрин, флавобактерин и экстрасол 55) как на фоне без азотного удобрения, так и с его внесением содержание азота в соломе не изменяется, что может свидетельствовать, с одной стороны, о рациональном использовании азота, а с другой, о возможном дефиците этого элемента питания в почве. Обработка семян биопрепаратами не влияет на концентрацию фосфора в соломе ячменя, однако имеет место тенденция повышения концентрации калия, что свидетельствует об улучшении калийного питания растений, которое способствует повышению устойчивости растений к фитопатогенным микроорганизмам [Шульпина, 1998].

Вынос азота с урожаем ячменя в результате инокуляции семян биопрепаратами на фоне без азотного удобрения возрос на 12-17 кг/га или на 20-29% (табл. 2.53). На фоне с внесением азотного удобрения вынос азота с

урожаем от биопрепаратов увеличился на 6,5-8,2 кг/га или 11-13%. В обоих случаях накопление азота в урожае ячменя уступало применению азотного удобрения. Увеличение выноса азота с урожаем от использования биопрепаратов связано как с повышением использования азота из удобрения, так и увеличением потребления азота почвы и вовлечения в агроценоз азота атмосферы за счет деятельности микроорганизмов, входящих в состав биопрепаратов.

Таблица 2.53. Накопление азота в урожае ячменя в зависимости от внесения удобрений и обработки семян биопрепаратами, среднее за 3 года

Вариант	Накопление, кг/га	Увеличение от:					
		всего		N-удобрения		биопрепарата	
		кг/га	%	кг/га	%	кг/га	%
1. P30- фон 1 (Ф1)	58,2	-	-	-	-	-	-
2. Ф1+ризоагрин	70,1	11,9	20	-	-	11,9	20
3. Ф1+флавобактерин	74,8	16,6	29	-	-	16,6	29
4. Ф1+экстрасол 55	74,3	16,1	28	-	-	16,1	28
5. N30P30-фон 2 (Ф2)	79,8	21,6	37	21,6	37	-	-
6. Ф2+ризоагрин	86,3	28,1	48	21,6	37	6,5	11
7. Ф2+флавобактерин	87,1	29,8	50	21,6	37	8,2	13
8. Ф2+экстрасол 55	86,7	28,5	49	21,6	37	6,9	12
9. N60P30	91,6	33,4	57	33,4	57	-	-

Вынос фосфора с урожаем зерна и соломы ячменя возрастал на 18-24% за счет обработки семян биопрепаратами, что, эквивалентно внесению азотного удобрения в дозе 30 кг/га. На фоне N30 флавобактерин и экстрасол 55 увеличили вынос фосфора с урожаем эквивалентно внесению азотного удобрения в дозе 60 кг/га. Обработка семян биопрепаратами повышала локализацию фосфора в зерне от общего его накопления в урожае.

В результате обработки семян биопрепаратами происходило возрастание выноса калия с урожаем ячменя, при этом действие флавобактерина и экстрасола 55 эквивалентно внесению под ячмень азотного удобрения в дозе 30 кг/га. На фоне N30 эти биопрепараты также увеличили вынос калия, но уступали внесению N60.

Биологические затраты азота для получения 1 ц зерна с соответствующим количеством соломы зависели от внесения азотного удобрения и применения биопрепаратов. Без внесения N-удобрения или при инокуляции семян биопрепаратами затраты азота составляли 2,5 кг/ц, они возрастали от внесения N30 до 2,64 кг/ц, N60- до 2,83 кг/ц. Биопрепараты на фоне N30 равноценно внесению N60 увеличили затраты азота до 2,84 кг/кг. Биологические затраты фосфора на формирование 1 ц зерна с

соответствующим количеством соломы слабо изменялись от условий питания растений и составляли 0,77-0,82 кг/ц, только при инокуляции семян флавобактерином и экстраасолом 55 на фоне N 30 они возросли до 0,95-1,03 кг/ц.

Минеральные удобрения и биопрепараты не влияли на биологические затраты калия для формирования 1 ц зерна, которые составляли 1,3-1,4 кг K_2O .

Максимальная оплата удобрений прибавкой урожая получена при внесении под ячмень азотного, или азотно-фосфорного удобрений. Оплата удобрений прибавкой урожая возрастает при обработке семян ризосферными биопрепаратами.

Количество созданного зерна на 1 кг вынесенных NPK- элементов при обработке семян биопрепаратами было выше, чем при внесении под ячмень минеральных удобрений, что свидетельствует об эффективном функционировании агроценоза.

Коэффициент использования азота из удобрений (по отношению к контролю без удобрений) при внесении доз азота от 30 до 60 кг/га достиг 35-45% и увеличивается до 50% при дробном внесении. Азотное удобрение повышает коэффициент использования растениями фосфора и калия из удобрений. При обработке семян биопрепаратами увеличилось использование ячменем азота удобрения, что связано, как с повышением потребления растениями азота удобрения и азота из почвы, так и фиксацией атмосферного азота микроорганизмами, входящими в состав биопрепаратов.

2.5. Горох и гречиха

В полевом опыте в Курганской области на чернозёме выщелоченном среднемощном среднесуглинистом с содержанием гумуса в пахотном слое (по Тюрину) 4,9-5,2%, рНсол. 5,8-6,0; гидролитическая кислотность 3-4 мг-экв/ 100г, по зерновому предшественнику определяли эффективность обработки экстраасолом 55 семян гороха. В результате исследований на горохе получено достоверное повышение урожайности зерна при обработке экстраасолом 55 до посева в дозе 0,5 л на 1 тонну т семян (табл. 2.54).

Таблица 2.54. Урожайность зерна гороха сорта Аксайский усатый-55 при обработке семян экстраасолом 55, ц/га

Вариант	Урожайность семян	Прибавка
Контроль	19,2	-
Экстраасол 0,5 л/га	20,5	1,3
Экстраасол 1 л/га	19,1	-0,1

Экстрасол 2 л/га	18,8	-0,4
НСР _{0,5}		0,9

В модельном опыте во ВНИИ зернобобовых и крупяных культур изучали эффективность экстрасола 55 на растения в начальный период их развития. Проведённые исследования показали, что препарат экстрасол обладал стимулирующим действием на рост и развитие проростков семян гороха и гречихи (табл.2.55).

Предпосевная обработка семян гороха сорт Орлус препаратом экстрасол в дозе 100 мл на литр воды за одни и двое суток до посева увеличивала линейную длину проростков гороха и их массу на 8,3-28,6%. Повышение дозы препарата в два раза привело к увеличению роста проростков и их массы от 6,4 до 35,5%. Существенных различий по длине корешков и ростков, а так же их массы от различных доз препарата не установлено. Следовательно, при обработке семян гороха за одни-двое суток до посева препаратом экстрасол следует использовать дозу 100 мл на литр воды, как наиболее экономически целесообразную.

Обработка семян гороха в дозе 100 мл экстрасола на литр воды за 10 суток до посева приводила к более существенному приросту линейных размеров проростков семян. Так, длина корешков и ростков на 4-е сутки проращивания (на день учёта энергии прорастания) превышала контрольные от 13,3 до 42,8 %, на 8-е сутки проращивания превышение биометрических показателей проростков составило от 21,3 до 35,5 %, при этом их масса была больше на 31,7-37,5%.

Обработка семян гороха экстрасолом за 10 суток до посева, но в дозе 200 мл на литр воды также способствовали увеличению линейных размеров проростков и их массы, но это превышение было аналогично действию препарата в дозе 100 мл на тонну.

Таким образом, предпосевную обработку семян гороха целесообразно проводить в дозе 100 мл экстрасола на литр воды (расход рабочего раствора 10 литров на тонну семян) заблаговременно, за 10 суток до посева, что очень важно для практики.

Таблица 2.55. Эффективность действия препарата экстрасол на проростки семян гороха и гречихи (средние за 2001-2003 гг.)

Вариант	Длина на 4-е сутки, см		Длина на 8-е сутки, см		Масса проростков, г	
	корень	растение	корень	растение	корень	растение
Горох						
Контроль	4,5	0,7	13,6	7,6	25,2	32,8
Экстрасол (100мл на	4,5	0,9	14,9	9,3	27,3	36,9

литр воды) за сутки и два дня до посева В % к контролю	-	28,6	9,6	22,4	8,3	12,5
Экстрасол (200мл на литр воды) за сутки и два дня до посева В % к контролю	4,5	0,8	14,8	10,3	29,0	34,9
Экстрасол (100мл на литр воды) за 10 суток до посева В % к контролю	5,1	1,0	16,5	10,3	39,2	45,1
Экстрасол (200мл на литр воды) за 10 суток до посева В % к контролю	13,3	42,8	21,3	35,5	31,7	37,5
Экстрасол (200мл на литр воды) за 10 суток до посева В % к контролю	4,7	1,1	16,5	9,0	34,3	32,8
Экстрасол (200мл на литр воды) за 10 суток до посева В % к контролю	4,4	57,1	21,3	18,4	36,1	-
Гречиха						
Контроль	13,4	9,3	11,3	16,2	3,9	21,7
Семена, обр.	13,0	9,2	14,8	15,8	4,0	24,7
Экстрасол (100мл на литр воды) за сутки до посева В % к контролю	-3,0	-1,1	11,3	-2,5	2,6	13,8
Экстрасол (200мл на литр воды) за сутки до посева В % к контролю	15,0	11,8	16,3	18,3	4,2	24,7
Экстрасол (100мл на литр воды) за 10 суток до посева В % к контролю	11,9	26,9	22,6	13,0	7,7	13,8
Экстрасол (100мл на литр воды) за 10 суток до посева В % к контролю	7,6	6,6	13,9	13,3	4,8	18,3
Экстрасол (200мл на литр воды) за 10 суток до посева В % к контролю	-43,3	-29,1	4,5	-17,9	25,6	-15,7
Экстрасол (200мл на литр воды) за 10 суток до посева В % к контролю	11,0	7,6	16,9	16,0	4,5	21,7
Экстрасол (200мл на литр воды) за 10 суток до посева В % к контролю	-17,1	-18,3	27,1	-1,2	15,4	-

Предпосевную обработку семян гречихи экстразолом проводили по тем же регламентам, что и у гороха: за сутки и за 10 суток до посева в дозах 100 мл и 200 мл препарата на литр воды. Результаты исследований (табл.2.55) показывают, что семена гречихи, обработанные в дозе 100 мл экстразола на литр воды за сутки до посева, не имели существенного увеличения прироста длинны корешков, ростков и их массы.

Обработка семян гречихи за сутки до посева, в дозе 200 мл экстразола на литр воды стабильно действовала на увеличение размеров проростков. Так, на 4-е сутки проращивания длина корешков и ростков была больше

контрольных на 11,9-26,9%, на 8-е сутки превышение составляло 13,0-22,6%, при этом их масса превосходила на 7,7-13,8%.

Семена гречихи, обработанные за 10 суток до посева в дозах 100 и 200 мл на тонну семян, не увеличивали линейные размеры проростков, а наоборот, наблюдается их замедленный рост. Это, видимо, происходит потому, что семена гречихи имеют плёнку, слабо проницаемую для препарата.

Таким образом, предпосевную обработку семян гречихи следует проводить препаратом Экстрасол за сутки до посева в дозе 200 мл на литр воды, дозу рабочего раствора так же следует увеличивать до 15-20 литров на тонну семян.

В Полевых опытах ВНИИЗБК на тёмно-серой среднесуглинистой почве, имеющей перед закладкой агротехническую характеристику: рН_{KCl} 5,0-5,2; Нг – 4,2-4,6 мг-экв./100г; S-22-24 мг.экв./100г; V-78,5-92,0%; содержание гумуса 4,2-4,6%, Нобщ-0,46%, определяли действие биопрепарата экстрасол на полевые культуры.

Проведённые исследования показали, что обработка семян гороха экстрасолом при первом сроке учета (через 10 суток) после появления полных всходов обеспечили более быстрый рост растений, превышение по высоте было 9,7%. При втором учете (через 20 суток после полных всходов) – оно составляло 8,4%, при третьем (через месяц после полных всходов) превышение по высоте составляло 3-4%, а при четвёртом (через 40 суток после полных всходов) растения по высоте не различались. Следовательно, обработка семян гороха экстрасолом обеспечивает более быстрый рост растений в первые 2 декады после всходов, а в дальнейшем происходит выравнивание линейной длинны растений.

Учёт зелёной массы растений и массы корней гороха проводили в фазе бутонизации – начало цветения. У обработанных семян экстрасолом зелёная масса растений была больше контрольных на 18%, масса корневой системы растений – на 18%. Сухая надземная масса (через месяц после естественной сушки) превышала контрольную на 25,8%. Действие биопрепаратов экстрасол на снижение поражения корневыми гнилями растений гороха проводили в фазе цветения и в фазе технической спелости бобов. Установлено, что на делянках в фазе цветения, где высевали семена, обработанные экстрасолом, поражение растений корневыми гнилями было меньше на 5%, а степень развития болезни снизилась на 6,5%. В фазе технической спелости степень поражения растений гороха корневыми гнилями составляла 100%, но степень развития болезни была меньше на 2,5%.

Обработка семян гороха препаратом экстрасол обеспечила повышение полевой всхожести и увеличения урожайности (табл.2.56).

Таблица 2.56. Влияние препарата экстрасол на полевую всхожесть и урожайность гороха

Вариант	Полевая всхожесть, %	Урожайность семян, ц/га				
		2001 г.	2002 г.	2003 г.	сред.	% к контролю
Контроль	79	18,5	24,4	22,1	21,7	-
Экстрасол (100 мл на литр воды)	86	20,9	26,1	24,8	23,9	10,1
Опрыскивание растений Экстрасол (2л препарата на 200л воды, на 1 га)	-	21,1	26,3	25,2	24,2	11,5
НСР ₀₅	-	1,3	1,7	1,0		

В среднем за три года полевая всхожесть семян гороха, обработанных экстрасолом, была выше на 7%, урожайность превышала контроль на 2,2 ц/га или на 10,1%. Опрыскивание вегетирующих растений гороха препаратом экстрасол в фазе бутонизации в дозе 2 л препарата на 200 л воды, на 1 га обеспечило получение прибавки урожая на 2,5 ц/га или 11,5%.

Проведённый структурный анализ растений гороха, свидетельствует, что увеличение урожайности у гороха происходило за счёт увеличения количества бобов на растении (4,8%) и количества семян в бобе (7,2%).

Территория Орловской области подвергалась загрязнению радионуклидами в результате аварии на Чернобыльской атомной электростанции. Поэтому было проведено изучение действия препарата экстрасол на накопление Цезия-137 в растениеводческой продукции. Результаты показали, что от обработки семян гороха препаратом экстрасол в урожае накопление радионуклида цезия-137 было меньше на 7,7 бк/кг, а при опрыскивании вегетирующих растений гороха этим препаратом содержание цезия-137 в семенах было меньше на 8,8 бк/кг.

Таким образом, для предпосевной обработки семян гороха препаратом экстрасол оптимальная доза препарата является 100 мл на тонну. Обработку семян возможно проводить заблаговременно в срок за 10 суток до посева. Расход рабочего раствора 10 литров на тонну семян. Предпосевную обработку семян гречихи препаратом Экстрасол следует проводить за сутки до посева в дозе 200 мл на тонну, расход рабочего раствора на тонну семян составляет 15-20 литров. При этих сроках и дозах обработок наблюдается наибольший прирост массы растений.

Предпосевная обработка семян гороха препаратом экстрасол повышает энергию прорастания и лабораторную всхожесть до 3%, обеспечивает более быстрый рост растений в первые две декады после всходов, снижает поражение растений корневыми гнилями до 5,0%, а степень развития болезни – на 6,5%, приводит к увеличению зелёной массы растений и корней до 18%, а сухой массы растений до 25,0%.

Полевая всхожесть семян гороха, обработанных препаратом экстрасол повышается до 7%, а урожайность увеличивается на 2,2 ц/га или на 40,1%. Опрыскивание вегетирующих растений гороха препаратом экстрасол обеспечивает получение прибавки урожая 2,5 ц/га (11,5%).

Обработка семян гороха и яровой пшеницы препаратом экстрасол снижает накопление радионуклидов (цезия-137) в основной продукции на 6,2-7,7 бк/кг.

2.6. Картофель

В опытах, проведённых в Белорусской государственной сельскохозяйственной академии, изучали эффективность биопрепаратов на различных сортах картофеля Атлант (поздний) и Импала (ранний). В полевом опыте изучали биопрепараты азоспириллы, экстрасол, ризобактерин и фитостимифос. Азоспирилла (*Azospirillum*) относится к ассоциативным азотфиксаторам, способным развиваться в ризосфере и ризоплане растений. В отличие от азотобактера, который развивается в некотором отдалении от поверхности корня (в ризосфере) азоспирилла находится на его поверхности и может проникать в ткань корня и даже находиться в стеблях и листьях.

В Беларуси в последние годы на основе всестороннего изучения потенциальных продуцентов микробиологических препаратов азотфиксирующего действия также созданы новые высоко эффективные биопрепараты. Одним из таких биопрепаратов является ризобактерин. Этот препарат создан НИИ микробиологии НАНРБ на основе ассоциативного диазотрофа *KL planticola 5*, обладающего множественным эффектом: фиксация азота атмосферы, биосинтез ИУК, подавление жизнеспособности корневых фитопатогенов. Он обеспечивает повышение урожайности ячменя в среднем на 5,3 ц/га, озимой ржи - на 5,9, озимой пшеницы - на 4,6, яровой - на 3,5 ц/га и позволяет снизить дозы вносимых под зерновые культуры азотных удобрений на 15-30 кг/га.

Помимо азота, урожайность сельскохозяйственных культур лимитируется дефицитом второго по значимости элемента питания растений - фосфора. Одним из реальных путей дополнительного снабжения растений фосфором является микробиологическая фосфатмобилизация. Результатом

исследований, связанных с поиском и отбором местных штаммов фосфатмобилизующих микроорганизмов, способных эффективно влиять на урожайность растений, явилось создание ростостимулирующего биопрепарата фитостимофоса. Этот препарат осуществляет микробиологическую трансформацию труднорастворимых фосфатов почвы и удобрений в доступную растениям форму. Его применение существенно повышает биологический потенциал растений и способствует увеличению урожая овощных, картофеля и корнеплодов. Кроме того, микробные продуценты препарата обладают противонематодным действием. В настоящее время в агрономической практике в целях повышения урожайности и качества сельскохозяйственной продукции широкое распространение находит применение регуляторов роста. По данным ученых Института биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины, созданные ими экологически безвредные регуляторы роста растений (эмистим С, потейтин, ивин, бетастимулин, зеастимулин и агростимулин) повышают полевую всхожесть семян, способствуют развитию мощной корневой системы и листовой поверхности, активизируют фотосинтез, стимулируют процессы плодообразования, уменьшают количество нитратов и тяжелых металлов в продукции.

Новые препараты при незначительных нормах использования (от десятков мг до нескольких граммов д.в. на тонну семян или на га посевов) способствуют повышению урожайности колосовых культур на 3-7 ц/га, кукурузы на зерно - 7-10 ц/га, на силос - 50-70 ц/га, сахарной свеклы - на 30-70 ц/га, картофеля - на 35-80 ц/га, земляники садовой - на 10-15 ц/га. Применение этих регуляторов роста улучшает качество сельскохозяйственной продукции: в семенах масличных культур увеличивается накопление жира, в зерне - клейковины и белка, в сахарной свекле - сахара. Повышается пищевая ценность овощной и ягодной продукции.

Таким образом, применение регуляторов роста и микробиологических препаратов является одним из наиболее важных и перспективных направлений в деле повышения урожайности и качества продукции сельскохозяйственных культур не только в России, но и в Беларуси [Персикова и др., 2002].

В опыте использовали технологию пересадки картофеля из условий «*in vitro*» в условия «*in vivo*» - использование специальных пластиковых кассет. Система выращивания растений в кассетах при небольшом объеме почвенного субстрата благоприятно влияет на корнеобразование, улучшает адаптацию растений (условия приближены к тем, в которых находились растения, произрастая в пробирках). Корни таких растений при пересадке из

кассет в грунт не повреждаются и не замедляют свой рост. В приготовленный субстрат (торф : песок : дерновая земля = 3:1:1) добавляли определенный микробиологический препарат (в зависимости от варианта) и перемешивали, затем проводили набивку кассет. Растения «in vitro» высаживали в кассеты с определенным для каждого варианта субстратом и помещали в культуральную комнату для адаптации. После адаптации и укоренения (3-4 недели) растения картофеля переносили в грунт теплицы.

Таблица 2.57. Влияние микробных препаратов на развитие растений картофеля сорта Атлант

Вариант	Высота растений,	Число стеблей, шт.		Число междоузлий, шт.	Вегетативная масса, г
		общее	продуктивные		
1. Контроль	102,3	6,7	1,8	60,1	197,5
2. Азоспирилла	107,9	7,2	1,8	61,1	223,5
3. Экстрасол	117,9	7,2	1,9	70,1	243,0
4. Ризобактерин	128,0	6,7	2,1	62,0	262,3
5. Фитостимфос	118,8	7,4	1,9	73,6	283,5
НСР ₀₅	8,3	0,6	0,2	8,7	26,6

Таблица 2.58. Влияние биопрепаратов на развитие растений картофеля сорта Импала

Вариант	Высота растений, см	Число стеблей, шт.		Число междоузлий, шт.	Вегетативная масса, г
		общее	продуктивные		
1. Контроль	81,4	6,2	1,7	54,6	183,0
2. Азоспирилла	89,0	6,4	2,2	60,1	195,0
3. Экстрасол	88,5	6,8	2,3	65,4	195,8
4. Ризобактерин	81,1	6,5	2,3	59,6	185,3
5. Фитостимфос	78,2	6,4	2,0	62,2	177,3
НСР ₀₅	7,3	0,5	0,4	5,3	9,3

Согласно биометрическим данным (табл. 2.57, 2.58), применение микробных препаратов на этапе адаптации и укоренения растений картофеля положительно сказалось в дальнейшем на росте и развитии этих растений. Хотя достоверная разница в увеличении основных биометрических показателей по сравнению с контролем отмечена не во всех вариантах опыта. Так, у позднего сорта Атлант существенная разница в росте растений получена лишь при применении ризобактерина. В среднем высота растений от действия ризобактерина увеличилась на 25,1% по сравнению с контролем. Этот же вариант отмечался и наибольшим числом продуктивных стеблей (2,1 штук против 1,8 на контроле). Достоверное повышение общего числа

стеблей и междоузлий отмечалось при действии фитостимофоса. Среднее число стеблей в этом варианте у растений сорта Атланта на 10,5% превышало контроль, а среднее число междоузлий на 22,5%.

Таким образом, высокорослые, хорошо развитые кусты сорта Атлант в вариантах с ризобактерином и фитостимофосом обеспечили накопление большей вегетативной массы. Применение ризобактерина вызвало прирост вегетативной массы на 43,5, а применение фитостимофоса - на 32,8%. Существенное преимущество по биомассе выявлено у сорта Атлант и при применении экстрасола (прирост составил 23,0%). Максимальный рост растений картофеля раннего сорта Импала отмечен при применении азоспириллы и экстрасола. В среднем высота растений от действия этих биопрепаратов увеличилась на 9,3% и 8,7% соответственно.

Применение экстрасола существенно повышало кустистость растений и число междоузлий. Число стеблей при этом увеличилось по сравнению с контролем на 9,7%, а число междоузлий на 19,8%. Повышенный рост и кустистость растений картофеля сорта Импала при применении экстрасола способствовали максимальному нарастанию биомассы. Прирост биомассы по сравнению с контролем в этом варианте составил 7,0%. Почти такой же прирост биомассы (6,6%) обеспечило применение азоспириллы. Применение ризобактерина и фитостимофоса у раннего сорта, в отличие от позднего, не повлияло на нарастание биомассы.

Таким образом, применение микробиологических препаратов положительно сказалось на основных биометрических показателях растений картофеля. Наиболее эффективным для роста и развития позднего сорта Атлант было применение ризобактерина, для раннего сорта Импала - применение экстрасола.

Таблица 2.59. Влияние микробиологических препаратов на урожайность картофеля сорта Атлант

Вариант	Количество клубней с куста, шт.	Масса клубней с куста, г	Масса одного клубня, г
1.Контроль	5,8	141,3	24,4
2.Азоспирилла	6,5	169,3	26,1
3.Экстрасол	5,6	171,8	30,7
4.Ризобактерин	5,8	184,8	31,9
5.Фитостимофос	6,3	177,3	28,1
НСР ₀₅	0,4	34,4	

Таблица 2.60. Влияние микробных препаратов на урожайность картофеля сорта Импала

Вариант	Количество клубней с куста, шт.	Масса клубней с куста, г	Масса одного клубня, г
1.Контроль	7,4	230,3	31,1
2.Азоспирилла	8,7	262,0	30,1
3.Экстрасол	8,7	269,8	31,0
4.Ризобактерин	7,9	249,0	31,5
5.Фитостимофос	7,9	239,3	30,3
НСР ₀₅	0,6	19,8	

Результаты исследований (табл. 2.59, 2.60) свидетельствуют, что урожайность клубней картофеля от применения микробных препаратов росла или отмечалась тенденция к ее увеличению. Максимальная прибавка урожая по сравнению с контролем у позднего сорта наблюдалась при использовании ризобактерина и фитостимофоса (30,8 и 25,5% соответственно), а у раннего сорта при использовании азоспириллы и экстрасола (13,8 и 7,2% соответственно).

Таким образом, более мощные, хорошо развитые растения обеспечили и наибольший урожай клубней. Применение азоспириллы и экстрасола у раннего сорта повысило коэффициент размножения клубней по сравнению с контролем на 17,6%.

Использование азоспириллы достоверно повышало коэффициент размножения клубней и у позднего сорта (на 12,1%). Почти такой же коэффициент размножения у сорта Атлант отмечен от действия фитостимофоса. Следовательно, повышение урожайности картофеля, в основном наблюдалось за счет увеличения коэффициента размножения клубней.

В ходе исследований выявлена высокая устойчивость к фитофторозу. Однако наблюдалась поражаемость клубней паршой (табл. 2.61). Особенно сильно парша проявилась на клубнях позднего сорта Атлант. Ранний сорт Импала оказался более устойчивым к парше. Так, у сорта Атлант 20,6-32,1% клубней были поражены паршой, у сорта Импала - 2,5-13,6%. Причем, наиболее пораженными паршой получены клубни в контрольном варианте. Применение микробных препаратов заметно снижало поражаемость клубней паршой.

Таким образом, результаты исследований, показывают, что применение биопрепаратов служит эффективным средством повышения продуктивности картофеля и защиты его от болезней. Рост урожая наблюдался главным

образом за счет повышения коэффициента размножения клубней, причина которого связана с более интенсивным развитием биомассы растения.

Таблица 2.61. Влияние биопрепаратов на поражаемость растений картофеля паршой, %

<i>Вариант</i>	Атлант	Импала
1.Контроль	32,1	13,5
2.Азоспирилла	23,0	-
3.Экстрасол	22,4	5,7
4.Ризобактерин	26,7	2,5
5.Фитостимифос	20,6	5,1

Влияние биопрепаратов на урожайность картофеля изучали также на сорте Каратоп в ПСХ «Солонцово» Высокогорского района Республики Татарстан на серой лесной среднесуглинистой почве, имеющей реакцию среды $pH_{\text{сол.}}$ 5,3, содержание гумуса 3,3% и содержание подвижного фосфора 212 мг/кг и содержание подвижного калия 158 мг/кг.

Семенные клубни картофеля обрабатывали экстразолом-55 перед посадкой в дозе 1л/т (10 л рабочего раствора), а также в качестве опрыскивания растений в фазу начало цветения в дозе 2 л/га (200 л/га рабочей жидкости) посева.

Предпосевная обработка клубней картофеля экстразолом-55 в сочетании с опрыскиванием посевов в фазу начало цветения препаратом Акробат МЦ обеспечили биологическую эффективность против фитофтороза и макроспориоза 93%. При использовании биологического препарата экстрасол для обработки клубней в сочетании с Акробатом МЦ биологическая эффективность была, примерно, такой же – 90%. Максимальная биологическая эффективность против вышеназванных болезней 98,5% получена при использовании химических препаратов Акробат МЦ +Ромицил МЦ для обработки вегетирующих растений.

Положительное действие препаратов на развитие и распространенность болезней отразилось на величине урожайности клубней картофеля. От использования экстразола-55 до посадки и по вегетации экстрасол-55+Агробата МЦ прибавка клубней достигла 20 ц/га, а только от обработки по вегетации вышеназванными препаратами было получено дополнительно 15 ц/га. При использовании по вегетирующим растениям двух химических препаратов урожайность клубней увеличилась на 27 ц/га.

2.7. Лен-долгунец

В полевом опыте в Новгородской области величина и качество будущего урожая льна-долгунца, а также условия развития льна-долгунца на участках значительно соотносятся со средней длиной стебля (табл. 2.62). Изучение данного показателя в динамике позволило выявить характер влияния различных обработок на формирование растения льна. Предпосевная обработка семян биопрепаратом экстрасол 55 оказала положительное влияние на рост растений льна. Несмотря на прохладное начало лета к 3-ей декаде июня растения, выросшие из обработанных семян опережали контрольные. К моменту 2-го учета (08.07) разница в высоте растений на контроле и опыте стала заметна визуально, а различие достигло максимального за весь период наблюдений различия - почти 12 см. К середине августа различия между растениями по высоте выравнивались, но учета наиболее высокие и сильные растения сформировались именно при использовании препарата. Проведение 1-й обработки экстрасолом по вегетации 23.06 оказало влияние, как и следовало ожидать, на стимуляцию роста всех растений. Наиболее отзывчивыми па экстрасол оказались сорняки. Их ускоренное развитие в условиях недостатка элементов питания во многом подавило рост льна-долгунца. В итоге, после удачного начала вегетации, обусловленного предпосевной обработкой, лен стал отставать по темпам прироста длины от растений на контрольном участке. Вторая обработка экстрасолом несколько выправила отрицательный эффект от 1-й обработки, но развитие льна происходило уже все равно в условиях конкуренции с сильными сорняками. Существенными оказываются различия в длине, вызванные предпосевной обработкой семян и 2-й обработкой по вегетации.

Таблица 2.62 Влияние экстрасола 55 на длину растений льна, см

Дата	Контроль	Экстрасол на семена	Экстрасол на семена+в фазу елочки	Экстрасол на семена+в фазу цветения	НСР ₀₅
23.06	16,9	16,6	17,5	19,8	0,5
7.07	43,0	56,2	56,0	56,1	1,1
12.08	69,7	75,3	69,6	70,6	1,0
9.09	71,4	77,1	71,1	72,7	0,9

Таблица 2.63. Густота стояния растений льна-долгунца, шт/м²

Дата	Контроль	Экстрасол на семена	Экстрасол на семена+в фазу елочки	Экстрасол на семена+в фазу цветения
Июнь	1076	1424	1400	1300
Июль	1800	1452	1516	1408
Август	1724	1352	1464	1336

Наиболее эффективной в погодных условиях 2004 г. при существующей агротехнике и засоренности посевов сорняками оказалась предпосевная обработка семян льна. Первая обработка растений по вегетации, при определенных условиях может иметь эффект обратный ожидаемому, то есть стимулировать рост сорняков и, тем самым, понизить продуктивность культурных растений. 2-я обработка может оказаться весьма эффективной при нормальной агротехнике, но не может ее заменить, поэтому необходимо проводить химическую прополку посевов.

Учеты динамики густоты стояния растений льна-долгунца за вегетационный период показали (табл. 2.63), что происходит увеличение количества растений. Обращает внимание то обстоятельство, что наиболее устойчивое положительное влияние на всхожесть и развитие растений оказала предпосевная обработка семян экстразолом 55.

Таблица 2.64. Масса растений льна-долгунца при использовании экстразола 55, г/м²

Дата	Контроль	Экстрасол на семена	Экстрасол на семена+в фазу елочки	Экстрасол на семена+в фазу цветения
7 июля	47,8	68,0	84,0	80,0
9 сентября	60,0	84,0	88,1	92,1

Еще один показатель состояния льна - динамика средней массы растений свидетельствует об обеспеченности растений элементами питания в процессе развития. Как показывают данные таблицы 2.64 наиболее полноценное стартовое питание обеспечено при обработке семян экстразолом 55. Эти растения и в дальнейшем опережали контрольные, что положительно сказалось на качестве и урожайности льна. Обработки по вегетации способствуют нормализации физиологических функций растения. Однако эффект от таких обработок в условиях производственного опыта сказался на развитии как культурных, так и (не в меньшей, возможно в большей степени) сорных растений. Тем не менее, обработки по вегетирующим растениям безусловно могут быть более эффективны при условии нормальной борьбы с сорняками.

Количество и сроки созревания завершается формированием плодов - коробочек, содержащих семена. Данные учета урожайности коробочек и степень их зрелости на день учета приведены в таблице 2.65.

Растения на контроле заметно отстают в развитии от растений на основных вариантах опыта, что согласуется с другими показателями состояния, описанными выше. Растения, обработанные экстразолом, к

августу не приобрели существенных различий от контрольных. Однако к сентябрю различия по обсемененности растений становятся заметны и, в целом, коррелируют с другими показателями: длиной, густотой стояния, массой растений.

Наиболее полно сформированным в вегетационном цикле развития оказался лён на варианте только с предпосевной обработке семян, несколько отстаёт – лён на варианте с обработкой семян и растений.

Таблица 2.65. Изменение количества и массы незрелых коробочек 100 растений льна-долгунца при использовании экстрасола 55

<i>Вариант</i>	Всего, шт.	Коробочки зрелые		Коробочки незрелые		Доля зрелых,%
		штук	масса	штук	масса	
Начало созревания						
Контроль	260	117	12,7	143	15,1	55
На семена	231	177	16,0	54	4,8	77
На семена+ в цветение	253	106	10,0	147	13,8	42
Конец созревания						
Контроль	294	294	27,6	12	1,4	90
На семена	440	440	41,2			100
На семена+ в цветение	343	343	32,6			100

Проведенные биометрические измерения позволяют дать качественную оценку эффективности различных обработок экстрасолом при выращивании льна-долгунца. Однозначно эффективной оказывается предпосевная обработка семян. Она вызывает стимуляцию роста на ранних стадиях развития растения и тем самым способствует лучшему состоянию посевов вплоть до конца вегетации. Проведение 1-й обработки по вегетации в условиях достаточно высокой засоренности участков сорняками привело скорее к отрицательному результату - произошла стимуляция развития сорной растительности. В условиях недостаточной обеспеченности почв элементами питания произошла провокация конкурентных отношений между льном и сорняками и, как следствие, ряд показателей развития культурной растительности снизился. 2-я обработка посевов экстрасолом оказалась в целом позитивной и особенно положительно отразилась на увеличении массы растений. Однако, можно предположить, что потенциальная эффективность 2-й обработки заметно снижена в силу выше обозначенных обстоятельств - засоренности полей сорняками и недостаточности минерального питания для максимального раскрытия

свойств хорошего семенного материала. Необходимо отметить, что оценка биометрических показателей на учетных делянках, расположенных на участках демонстрационного опыта, поставленного по схеме «контроль – опыт» дает только оценочные сведения об изменении характеристик развития растения, позволяющие интерпретировать, но не заменяющие данные производственного опыта.

Было проведено производственное испытание эффективности экстрасола при выращивании льна-долгунца. Завершающим этапом работы явилось определение эффективности испытуемого препарата в процессе учета количественных и качественных показателей продуктивности льна на контрольных и опытных демонстрационных участках. Урожайность и качество тресты льна-долгунца были определены на учетных делянках площадью 0.02 га 23 сентября посредством измерения соответствующих показателей по производственным методикам на Торжокском льнозаводе в Тверской области. Величина урожайности на учетных делянках была сопоставлена с данными сплошного сбора по участкам на поле.

В таблице 2.66 приведены данные учета урожайности тресты по основным вариантам производственного опыта. Наибольшая прибавка урожая обнаружена при предпосевной обработке семян - почти 60%. На остальных опытных участках выявлена четкая тенденция - каждая последующая после предпосевной обработка по вегетации сокращает прибавку урожайности, то есть эффективность применения экстрасола снижается. На варианте допосевной обработки семян льна-долгунца и опрыскивания в фазу перед цветением растений - разница в урожайности контроля и опыта оказывается несущественной. Данное обстоятельство связано с отмеченным выше эффектом стимуляции роста сорной растительности, которая быстро развиваясь вступает в конкурентные отношения и, в конечном итоге, подавляет развитие культурной - посевов льна-долгунца.

Сопоставление данных качества тресты, полученной на опытных и контрольном участках, свидетельствует о достаточно оптимистичной перспективе применения экстрасола при выращивании льна-долгунца. Треста на всех участках, где проведены обработки льна экстрасолом, имеет более высокий показатель качества (номер) и содержание волокна в ней значительно выше (табл. 2.67). Треста с наиболее высоким качеством и содержанием волокна по данным испытаний обнаружена при обработке семян экстрасолом, и исходя из данных, обработки по вегетации устойчиво повышали содержание льноволокна в тресте.

Таблица 2.66. Урожайность тресты льна-долгунца при использовании

экстрасола 55

Вариант	Урожайность, ц/га	Прибавка	
		ц/га	%
Контроль	17,6	-	-
На семена	28,1	10,5	60
На семена+в елочку	23,9	6,3	36
На семена+в цветение	19,7	2,1	12
На семена+в елочку+в цветение	19,4	1,8	10
НСР ₀₅	2,0		

Оценивая результаты производственного опыта в целом, можно отметить что, наиболее высокий показатель выхода волокна с единицы площади отмечена при обработке семян и опрыскивании посевов экстрасолом в фазу елочки, что вполне согласуется с результатами биометрических показателей.

Таблица 2.67. Влияние экстрасола 55 на сбор тресты льна-долгунца

<i>Вариант</i>	Качество тресты (№)	Содержание волокна в тресте, %	Выход волокна, кг/га
Контроль	0,75	9,2	162
На семена	1,25	12,7	357
На семена+в елочку	1,25	14,4	344
На семена+в цветение	1,00	13,0	256
На семена+в елочку+в цветение	1,25	12,9	250
НСР ₀₅		1,6	40

Следовательно, наиболее высокий производственный и экономический эффект от применения экстрасола, оцениваемый по прибавке выхода льноволокна – 1,9 ц/га вызвала предпосевная обработка семян льна. Заметное положительное влияние на показатели качества дает 1-я обработка по вегетирующим растениям льна. Эффективность 2-й обработки по вегетирующим растениям, в сравнении с первыми двумя, выражена менее однозначно. Различия в содержании волокна в тресте и выходе волокна на опытных участках, в сравнении существенна при уровне вероятности 95%.

Таким образом, предпосевная обработка семян льна-долгунца 10% раствором экстрасола при норме расхода 1,5 л/т семян вызывает увеличение урожайности и качества тресты, выход льноволокна и семян и может быть рекомендована для применения в хозяйствах среднего экономического уровня Новгородской области.

Обработки вегетирующих растений льна-долгунца 1% раствором методом опрыскивания способствуют: а) в фазу "елочки" - повышению выходу льноволокна; б) перед началом цветения - повышению качества тресты. Обработки вегетирующих растений нецелесообразно проводить при высокой засоренности посевов сорной растительностью и недостаточности эффективных мер для борьбы с нею. Расчетная экономическая эффективность от применения экстрасола при выращивании льна-долгунца в СПК «Строитель» в 2004 г. составила 2600-3700 руб/га и может быть повышена при нормализации агротехники в льняном севообороте в целом.

2.8. Подсолнечник

В полевом опыте, проведенном в Научно-исследовательском институте полевых культур Республики Молдова, на черноземе, характеризующемся средним содержанием подвижных форм фосфора и калия, определяли эффективность экстрасола- 55 на гибриде подсолнечника МПК 8506 F1, возделываемого после озимой пшеницы с использованием стандартной агротехнологии. Препарат использовали для обработки семян и по вегетирующим растениям в фазу бутонизации корзинок. В качестве стандартного препарата использовали Sumylex, который снижает пораженность растений подсолнечника корзиночной формой белой гнили и листовой формы фомопсиса.

В результате исследований установлено, что при использовании химического препарата Sumylex для обработки вегетирующих растений в фазу бутонизации распространенность гриба *Phomopsis sp.* снизилась в 8,9 раза, а его развитие осталось на том же уровне (табл. 2.68).

При использовании экстрасола 55 для обработки семян уменьшилось распространение заболевания в 5,4 раза, а уровень развития его несколько возрос, но был на том же уровне, что и при использовании химического протравителя.

В результате бактерицизации семян и обработки вегетирующих растений биопрепаратом эффективность его на распространенность гриба *Phomopsis sp.* была аналогичной допосевному его использованию, а степень развития болезни, увеличилась до 15,8%.

Таким образом, биопрепарат экстрасол при обработке семян по влиянию на распространенность и степень развития гриба *Phomopsis sp.* практически равноценен химическому протравителю, но при использовании

его в два срока (обработка семян и вегетирующих растений) эффективность экстрасола 55 по действию на развитие гриба уступает предпосевной обработке семян и стандартному химическому протравителю семян. Возможно это связано с воздействием погодных условий, отразившееся на развитии микроорганизмов, входящих в состав биопрепарата.

Интегральным показателем, отражающим условия жизни растений служит семенная продуктивность подсолнечника. Показано, что в результате использования химического и биологического препаратов для защиты растений от болезней получена достоверная (4,4-12,9 ц/га) прибавка урожайности семян подсолнечника (табл. 2.68).

Максимальная эффективность биопрепарата на урожайность семян подсолнечника получена при обработке семян в дозе 2 л/т, прибавка составила 12,9 ц/га, в то время как от использования химического препарата прибавка была в 3 раза меньше. При двукратном применении экстрасола 55 прибавка семян подсолнечника была такой же, как использование химического препарата.

Таблица 2.68. Эффективность использования экстрасола 55 на подсолнечнике (НИИ полевых культур, Молдавия)

Вариант	Phomopsis sp., %		Семена, ц/га	
	распространенность	развитие	урожайность	прибавка
1. Контроль	36,5	8,0	31,5	-
2. Sumylex 3 кг/га	4,1	8,8	35,9	4,4
3. Экстрасол 55 2 л/т	6,7	9,5	44,4	12,9
4. Экстрасол 55 2 л/т + 2 л/га	6,1	15,8	36,9	5,4
P, %			3,4	
НСР ₀₅			3,8	

Следовательно, пораженность растений патогенным грибом может быть уменьшена за счет обработки семян биопрепаратом комплексного действия экстрасол 55, который, обладая фунгицидным действием, положительно влияет на урожайность семян подсолнечника.

В связи с сокращением посевов зерновых и кормовых культур в Костанайской области высвобождено около 1,5 млн. га земель. В первую очередь выводятся из пашни малопродуктивные земли, представленные солонцами и их комплексами. Опыт освоения этих земель показывает, что ускоренное залужение этих земель затруднено из-за высокой засоренности и неблагоприятных водно-физических свойств почвы (высокая плотность, низкая скважность, большой диапазон недоступной влаги).

Вследствие плохой аэрации солонцовых почв снижается эффективность микробиологических процессов. Для мелиорации данных земель предлагается применение глубоких обработок почвы и посев подсолнечника, как предварительной культуры, обладающей засухо-, соле-, солонце- устойчивостью, мощной корневой системой, способствующей активной фитомелиорации. Глубокое мелиоративное рыхление проводили орудием РСН - 2,9 на глубину 35-37 см. Целью обработки являлось снижение плотности иллювиального горизонта почвы, увеличение водо-, и воздухопроницаемости почвы, создание промывного режима для смыва солей в нижние горизонты почвы.

По фону глубокого рыхления проводили посев подсолнечника на зеленую массу. В исследованиях была поставлена задача выявления ростостимулирующего действия биопрепарата экстрасол 55 при возделывании подсолнечника в неблагоприятных условиях (солонцеватость и засоленность почвы, дефицит запасов доступной влаги и подвижных элементов питания). Другие важные аспекты: это улучшение фитосанитарного состояния посевов по уровню развития и распространения болезней, а также улучшение пищевого режима солонцовых почв по обеспеченности подвижными соединениями азота и фосфора при повышении эффективности микробиологических процессов.

Таблица 2.69. Показатели всхожести и выживаемости растений подсолнечника возделывании на залежных солонцах Костанайской области

Вариант	Полевая всхожесть		Сохранность растений к уборке	
	шт/м ²	%	шт/м ²	%
Контроль	7,7	77,0	6,9	89,6
Гумат-натрия	8,0	80,0	7,4	92,5
Экстасол 55	8,5	85,0	8,0	94,1
Агроцин 50% с.п.	8,8	88,0	8,5	96,6

В начале вегетации в условиях быстрого нарастания суммы эффективных температур всходы подсолнечника испытывали угнетение. Этому способствовала также сухость климата в конце мая - начале июня. В этих жестких климатических условиях обработка семян экстразолом оказалась эффективной для получения дружных здоровых всходов (табл. 2.69). На этом варианте показатель полевой всхожести были лишь на 3% ниже применения высокоэффективного протравителя агроцин. Отмечено подавление препаратом экстрасол 55 возбудителей болезней подсолнечника: белой и серой гнилей. Биологическая эффективность против

возбудителей *Sclerotinia sclerotiorum* (склеротиниоз) и *Botrytis cinerea* (серая гниль) составила: экстрасол 55 - 79%, агроцин - 88%. В результате этого получены высокие показатели сохранности растений к уборке при использовании препаратов. При применении экстрасола 55 выживаемость растений подсолнечника в опыте увеличилась на 4,5% и была лишь на 2,5% меньше чем при использовании агроцина.

Обработка семян биопрепаратом экстрасол 55 способствовала улучшению азотного режима солонцовых почв. В опыте отмечено увеличение содержания нитратного азота с 8,8 до 10,1 мг/кг почвы. Почва из класса низкой степени обеспеченности азотом перешла в класс средней обеспеченности. Улучшение общей микробиологической активности почвы на фоне проведения глубоких мелиоративных обработок способствовало увеличению запасов подвижных соединений фосфора на варианте применения экстрасола 55. В условиях щелочной реакции солонцовых почв фосфор закреплен в труднорастворимой минеральной фракции гидроксил апатитов. На фоне глубокого рыхления и применения экстрасол 55 отмечено повышение растворимости фосфорных соединений и увеличение их содержания с 16 до 17,5 мг/кг почвы. Все эти факторы отразились на количестве и качестве полученной продукции (табл. 2.70).

Таблица 2.70. Урожайность зеленой массы подсолнечника, структура и показатели качества урожая на солонцовых комплексах Костанайской области

Вариант	Урожайность, ц/га	Доля в структуре урожая, %			Выход с 1 га посевов, ц	
		корзинки	листья	стебли	кормовые единицы	сырой белок
Контроль	215	34	24	42	34,4	2,75
Гумат-натрия	224	34	25	41	38,1	3,24
Экстрасол 55	246	35	26	39	44,3	3,99
Агроцин	240	35	25	40	43,5	3,80

Стимулирующий эффект от применения биопрепарата сказался в лучшем развитии ассимиляционной поверхности (облиственность выше контроля на 1-2%). Кроме того, экстрасол 55 способствовал лучшему развитию корзинок, которые наиболее ценны в питательном отношении. Доля корзинок в структуре урожая составила 35%, что было на одном уровне с протравителем агроцин. Благодаря большей доли в урожае корзинок и листьев и меньшей стеблей на варианте применения экстрасол 55 получен наиболее ценный в зоотехническом отношении корм (хорошая поедаемость, переваримость, лучшие показатели качества). Получено с 1 га

посевов 42,1 ц кормопротеиновых единиц при хорошем качестве корма (90,1 г переваримого протеина в 1 к.е.).

Следовательно, в экстремальных условиях выращивания подсолнечника на зеленый корм на залежных солонцах выявлена высокая эффективность от обработки семян биопрепаратом экстрасол 55. Кроме общестимулирующего, ростостимулирующего и адаптивного эффекта возделывания подсолнечника получено положительное влияние экстрасола 55 на и улучшение ее пищевого режима.

2.9. Хлопчатник

Хлопчатник основная техническая культура на юге Казахстана. За последние годы хлопковое волокно, после зерна стало важным экспортным товаром. Поэтому всемерное увеличение урожайности хлопка-сырца актуальная задача хлопкоробов. Между тем средняя урожайность хлопчатника в Южном Казахстане за 1996-2000 гг. не превысила 20 ц/га. Однако, передовые производственные кооперативы, фермеры получают высокие урожаи - 35-38 ц/га. Одним из условий получения высокого урожая хлопка-сырца является защита посевов от вредителей и болезней. Особое значение приобретают меры предотвращения развития корневых гнилей и гоммоза. Упрощенная технология возделывания хлопчатника, преобладание монокультур способствуют большему распространению и усилению вредоносности названных заболеваний. Поэтому защита хлопчатника от корневых гнилей, гоммоза биологическим препаратом экстрасол-55 представляет значительный производственный интерес.

Казахским НИИ защиты растений на светлом серозёме легкосуглинистом (содержание гумуса 0,8-1%) в хозяйств с. Сарыагаш Сарыагашского района Южно-Казахстанской области проведена производственная проверка эффективности биопрепарата экстрасол 55 против корневых гнилей, гоммоза хлопчатника путем предпосевной обработки семян с нормой расхода 2 мл препарата (0,2 л рабочего раствора на 1 кг семян). В качестве эталона применяли витавакс 200 в дозе 4 г препарата (0,15 л рабочего раствора на 1 кг семян). Обработку семян проводили на открытой площадке с последующей сушкой семян. Технология возделывания хлопчатника, рекомендованная для зоны: чизелевание почвы, боронование, вспашка. Посев 22 апреля. Ширина междурядий - 90 см, рыхление междурядий - 2, прополка сорняков - 2, полив - 2 раза

Результаты производственной проверки эффективности экстрасола-55 против корневых гнилей и гоммоза представлены в таблице 2.71. Этрасол-55 способствовал стимуляции прорастания семян и обусловил густоту растений

10,7 шт/п.м., что на 1,3 шт/п.м. больше чем на контроле. Поражённость растений на варианте с экстрасол-55 корневой гнилью составила; 10,3% и гоммозом - 8,8%, что в три и два раза меньше чем на контроле (30,2% и 15,9% соответственно). В варианте с витаваксом густота растений была 10,9 шт/п.м., а поражённость корневой гнилью и гоммозом 9,7% и 8,1% соответственно.

Таблица 2.71 Эффективность предпосевной обработки семян хлопчатника экстрасол-55 (опыт в хозяйстве Сарыагаш)

Вариант	Густота всходов шт/п.м.	Поражённость всходов, %		Урожайность хлопка-сырца ц/га	
		корневая гниль	гоммоз	всего	прибавка
Контроль	9,4	30,2	15,9	17,1	-
Экстрасол-55	10,7	10,3	8,8	20,4	3,3
Витавакс 200FF	10,9	9,7	8,1	20,9	3,8
P, %	4,0	7,2	5,2	3,1	
НСР ₀₅	1,9	5,4	2,5	2,7	

Предпосевная обработка семян хлопчатника экстрасол-55 позволила дополнительно получить 3,3, витаваксом – 3,8 ц/га хлопка-сырца. По эффективности биопрепарат соответствовал фунгициду витавакс 200.

В другом опыте, выполненном КазНИИЗ на светлом серозёме среднесуглинистом, но с меньшим содержанием гумуса, биопрепарат экстрасол 55, благодаря микроорганизмам, входящим в его состав обеспечил меньшую поражаемость всходов хлопчатника болезнями по сравнению с необработанными семенами: корневой гнилью более чем в 3 раза, а гоммозом – в 2 раза (табл. 2.72). Это обусловило большую густоту растений на варианте с экстрасол-55 на 0,9 шт/п.м. по сравнению с контролем.

Таблица 2.72. Действие биологического и химического препаратов на растения хлопчатника в условиях Южного Казахстана (КазНИИЗР)

Вариант	Густота всходов шт/п.м.	Поражённость всходов болезнями, %		Урожайность хлопка-сырца, ц/га	
		корневая гниль	гоммоз	всего	прибавка
Контроль	12,1	29,0	15,0	17,3	-
Экстрасол-55	13,0	8,9	7,2	22,3	5,0
Витавакс 200FF	13,2	9,1	7,2	22,7	5,4
P, %	6,9	4,8	4,6	2,1	
НСР ₀₅	2,8	2,4	1,4	1,4	

Относительно высокая поражённость растений на раннем этапе развития опасными распространёнными болезнями сказались и на их продуктивности хлопчатника, в варианте с экстразолом прибавка хлопка-сырца составила 5,0 ц/га, что эквивалентно эталону.

Резюмируя материалы испытания экстразола 55 на хлопчатнике можно заключить, что данный биопрепарат весьма перспективен в технологии возделывания культуры. Он оказывает защитное действие на растения и повышает на раннем этапе развития их устойчивость к болезням, а в конечном итоге увеличивает продуктивность.

2.10. Табак

В опытах Казахского НИИ защиты растений, проведённых на землях с. Малыбай Енбекшиказахского района Алмаатинской области на тёмном серозёме с содержанием гумуса 2-2,5%, испытывали экстразол-55, путем предпосевной обработки семян с нормой расхода 2 мл препарата (0,2 л рабочего раствора) на 1 кг семян. В качестве эталона применяли 40% формалин в 2% концентрации.

Технология возделывания табака рекомендованная для зоны (предшественник озимая пшеница, осенью зяблевая вспашка, весной - закрытие влаги, дискование, боронование). Ширина междурядий 70 см, рыхление междурядий - 2, прополка - 2, полив - 2 раза. Погодные условия несколько отличались от многолетних показателей. Весна была ранняя на 10-12 дней, осадки весной и в начале лета несколько превышали норму, а температура в июне-июле была выше на 2-3⁰С многолетней.

Таблица 2.73. Хозяйственная эффективность предпосевной обработки семян табака экстразолом 55 против корневых гнилей (опыт с. Малыбай)

Вариант	Поражённость корневыми гнилями (черная корневая гниль + черная ножка), %	Гибель растений, %	Отклонение от контроля, %		Урожайность, ц/га	Прибавка, ц/га
			поражённости корневыми	выпады растений		
Экстразол	10,3	2,1	24,6	9,8	18,7	2,2
Витавакс	11,7	2,5	23,2	9,4	18,2	1,7
Контроль	34,9	11,9			16,5	
P, %	3,2	6,7			3,2	
НСР ₀₅	2,8	1,7			2,0	

Результаты производственной проверки эффективности экстрасола-55 против черной корневой гнили, черной ножки представлены в таблице 2.73. Пораженность растений корневыми гнилями в варианте с экстрасолом 55 составила 10,3%, выпады - 2,1%, что на 24,6% и 9,8% соответственно меньше чем на контроле. На варианте с формалином пораженность растений болезнями, выпады были меньше чем на контроле на 23,2% и 9,4% соответственно.

Таблица 2.74. Эффективность предпосевной обработки семян табака экстрасолом 55 на тёмном серозёме

Вариант	Поражённость корневыми гнилями	Гибель растений	Урожайность сырья ц/га	
	%		всего	прибавка
1.Без обработки	34,9	11,9	16,5	-
2.Экстрасол 55	10,3	2,1	18,7	2,2
3. Формалин	11,7	2,5	18,2	1,7
Р,%	3,2	6,7	3,2	
НСР ₀₅	2,8	1,7	2,0	

Предпосевная обработка семян табака экстрасолом-55 позволила дополнительно получить 2,2 ц/га, формалином - 1,7 ц/га табачного сырья. Эти показатели позволяют считать биопрепарат перспективным против черной корневой гнили культуры (табл.2.74).

В другом опыте этого же института на тёмном серозёме (содержание гумуса 2-2,5%) в хозяйстве Сатарова Енбекшиказахского района Алматинской области также оценено действие экстрасола 55 на табаке.

Агротехника возделывания табака: предшественник озимая пшеница, осенью – зяблевая вспашка, весной – закрытые влаги, дискование, бронирование. Высадка рассады 15 апреля. Ширина междурядий 70 см., рыхление междурядий - 2, прополка сорняков – 2, полив – 2 раза. Использовали те же препараты, что и в предыдущем опыте. В результате исследований установлено (табл.2.75), что биопрепарат соответствовал действию химического протравителя формалина. Обработка семян табака экстрасолом снижает пораженность рассады корневыми гнилями: черной корневой более чем в два раза, чёрной ножкой - почти в четыре раза по сравнению с контролем.

Относительно высокое развитие и поражение рассады на контроле обусловили выпады растений, которые составляли 11,6%, тогда как в опыте и в эталоне гибель растений была минимальной 1,5 и 2,6% соответственно. Эффективность обработки семян формалином (эталон) по поражаемости

черной корневой гнилью была почти в два раза больше, чем экстразолом, а по черной ножке - на уровне биопрепарата.

Применение экстрасола позволило предотвратить выпадения растений на 10,1 %, формалина - на 9% меньше чем на контроле, что имеет большое хозяйственное значение, так как увеличивается выход посадочного материала. На контроле выпадения растений составили 11,6%.

Положительное действие биопрепарата на рост и развитие растений связано с тем, что при инокуляции происходит искусственное заселение поверхности семян полезной микрофлорой. При посеве таких семян бактерии интенсивно размножаются и активно колонизируют ризосферу молодого ростка. При этом бактерии синтезируют вещества, ингибирующие развитие патогенных грибов как *Fusarium*, *Alternaria*, *Helminthosporium* и др., а также оказывают положительное влияние на развитие полезных микроорганизмов. Эти свойства биопрепарата обусловили устойчивость молодых растений к возбудителям корневых гнилей, меньшей поражаемости, следовательно и выпадению. Биопрепарат экстрасол 55 при обработке семян, благодаря своим положительным свойствам, обусловил устойчивость рассады к поражению опасными болезнями черной корневой гнилью и черной ножкой, что в конечном итоге повысило урожайность табака по сравнению с контролем на 2,4 ц/га или на 13%. Прибавка урожая в варианте с формалином была больше, чем на контроле на 2,0 ц/га или на 10%, т.е. по эффективности оба препарата равноценны.

Таблица 2.75. Влияние предпосевной обработки семян табака экстразолом 55 на поражаемость растений болезнями и урожайность

Вариант	Пораженность растений болезнями		Гибель растений	Урожайность сырья, ц/га	
	чёрная корневая грязь	чёрная ножка		всего	прибавка
	%				
1. Контроль	6,3	28,4	11,6	18,5	-
2. Экстрасол-55	2,3	7,2	1,5	20,9	2,4
3. Формалин	4,5	8,1	2,6	20,5	2,0
P, %	4,8	5,2	4,6	1,8	
НСР ₀₅	0,7	2,4	0,8	1,2	

Анализируя материалы по пораженности хлопчатника болезнями, выпадению растений в период выращивания можно заключить, что биопрепарат экстрасол-55 является перспективным при возделывании табака на юго-востоке Казахстана. Применение биопрепарата позволяет снизить

пораженность растений болезнями, получить хороший посадочный материал – качественную рассаду, которая обладает высокой продуктивностью.

2.11. Овощные культуры

На черноземе обыкновенном в опытах Краснодарского НИИ овощного и картофельного хозяйства оценивали эффективность обработки семян капусты белокочанной препаратом экстрасол 55 в дозе 1 л на гектарную норму высева. Капусту сортов Славянка и Кубаночка выращивали безрассадным способом по предшественнику картофель. Для создания оптимальных условий азотного питания перед посевом было внесено азотное удобрение в дозе 100 кг/га. В фазу 6-7 настоящих листьев посева были дополнительно обработаны экстрасолом 55 в дозе из расчета 2 л/га с рабочим объемом 200 л/га.

В результате неблагоприятных погодных условий (недостаточное влагообеспечение, высокие летние температуры воздуха в период вегетации, отсутствие поливов) не обеспечили формирование потенциального урожая кочанов, однако было выявлено положительное действие бактеризации семян и обработки посевом биопрепаратом (табл. 2.76).

Обработка семян и вегетирующих растений биопрепаратом положительно сказалась на урожайности капусты, так на сорте Славянка прибавка составила 22 ц/га, а на сорте Кубаночка 31 ц/га, или дополнительный сбор урожая составил 19-20%, что, в принципе соизмеримо с внесением под культуру азотного удобрения в дозе 45-60 кг/га. Возрастание урожайности капусты происходило в результате увеличения массы одного кочана и их физиологической спелости. Все это свидетельствует о ростостимулирующем действии на растения [Кравченко, 2000] микроорганизмов, входящих в состав биопрепарата и, возможно, дополнительного вовлечения в агроценоз фиксированного азота [Завалин, 2005].

Таблица 2.76. Влияние экстрасола 55 на продуктивность сортов капусты белокочанной

Вариант		Урожайность			Масса кочана, кг	Спелые кочаны, %
		всего, ц/га	прибавка			
			ц/га	%		
Славянка	Контроль	112	-	-	1,10	35
	Экстрасол	134	22	19,6	1,20	39
Кубаночка	Контроль	165	-	-	1,35	42
	Экстрасол	196	31	18,8	1,40	48

В том же учреждении на площади 2 гектара испытывали экстрасол 55 на тыкве, семена которой перед посевом обрабатывали биопрепаратом, а также проводили обработку вегетирующих растений в начале бутонизации. В результате этого приема урожайность плодов составила 18,4 т/га, что превысило необработанный контроль на 2,2 т/га или на 14%.

И так, использование экстрасол 55 (обработка семян и опрыскивание растений) увеличивает урожайность капусты и тыквы, которое происходит в результате ростостимулирующего воздействия на растения микроорганизмов, входящих в состав биопрепарата.

В Казанской государственной сельскохозяйственной академии определяли эффективность использования биопрепарата экстрасол 55 в теплице при обработке вегетирующих растений огурца сорт Зозуля, выращиваемого на семена и на томатах, возделываемых для получения плодов.

Исследования показали, что листья огурца были поражены антракнозом (*Colletotrichum lagenarium* E), плоды - белой гнилью (*Sclerotinia sclerotiorum*), а все растение корневой гнилью (*Fusarium spp.*) (табл. 2.77).

Таблица 2.77. Влияние экстрасола 55 на пораженность растений семенного огурца болезнями

Показатель	Контроль	Экстрасол 55
Число листьев на 1 растение, штук	47,5	43,9*
Антракноз: распространенность, %	85	100
развитие, %	1,7	2,05*
Белая гниль, распространенность, %	10,1	5,1
Корневая гниль, распространенность, %	3,9	2

*Примечание: разница незначительна при 0,5 значимости

Обработка растений экстрасолом 55 не влияла на число листьев огурца и поражение их антракнозом, но в два раза снижала пораженность плодов белой гнилью и корневой гнилью растений.

Растения томата (плоды и листья) поражались фитофторозом (*Phytophthora infestans*) (табл. 2.78). Обработка растений биопрепаратом экстрасол 55 стимулировала плодоношение, снижала пораженность фитофторозом плодов и листьев.

Таблица 2.78. Эффективность экстрасола 55 против фитофтороза томатов

Показатель	Контроль	Экстрасол 55
Линейная длина растений, см	107,5	104,7*
Количество плодов на 1 растений, штук	14,8	18,5
Фитофтороз на листьях, развитие, %	19,5	18,0

Фитофтороз на плодах, распространенность, %	1,4	0,5
---	-----	-----

*Примечание: разница незначительна при 0,5 значимости

2.12. Эффективность экстрасола при нанесении на гранулы аммиачной селитры

Во ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии разработан и запатентован способ получения биоудобрения, включающий совмещение гранулированных удобрений с микробной биомассой, заключающийся в использовании в качестве гранулированных удобрений обычных форм минеральных удобрений, а в качестве биомассы бактериальный препарат Экстрасол на основе штамма «*Bacillus subtilis Ч-13*» [патент на изобретение № 2241692, 2004]. Бактериальный препарат созданный на основе штамма «*Bacillus subtilis Ч-13*» используют в виде сухого мелкодисперсного порошка с титром не менее 10^6 КОЕ/г, который наносят на поверхность гранул минеральных удобрений из расчета 4-5 кг/т. Бактериальный препарат может наноситься на поверхность гранул минеральных удобрений в виде жидкой фракции с титром не менее 10^8 КОЕ/мл из расчета 1-2 л/т путем мелкодисперсного опрыскивания или в виде жидкой фракции с титром не менее 10^9 КОЕ/мл в составе влагозащитных композиций из расчета 100-200 мл биопрепарата на 1 т минеральных удобрений.

Разработана технология получения двух биопрепаратов на основе спорных бактерий *Bacillus subtilis*, которые соответственно получили наименование Экстрасол БисолбиФит и Экстрасол БисолбиСан [Кожемяков, Чеботарь, 2005]. Действующее начало БисолбиФита и БисолбиСана составляют различные штаммы спорных бактерий, относящихся к роду *Bacillus*, обитающие на корнях здоровых растений.

Эти бактерии продуцируют вещества, подавляющие развитие фитопатогенных грибов и бактерий возбудителей ряда заболеваний у растений. Среди них бицилизин и итурин-подобные липопептиды, ингибирующие развитие фитопатогенных грибов при концентрации 5-100 микрограммов на миллилитр, что сравнимо с эффективностью химических фунгицидов. Бактерии рода *Bacillus*, представляющие действующее начало биопрепаратов БисолбиФита и БисолбиСана, индуцируют устойчивость растений к болезням и неблагоприятным факторам окружающей среды. Эта способность обусловлена такими микробными метаболитами как липополисахариды, ферменты, сидерофоры, салициловая кислота, индуцирующими PR-белки, связанные с процессом инфицирования растений фитопатогенами. Наряду с этим ризосферные бактерии рода

Bacillus синтезируют цитокинины, гибберелловую и абсцизовую кислоты, стимулирующие рост растений.

Бациллы – продуценты Экстрасола (БисолбиФит, БисолбиСан) за счет активной колонизации корней растений и продуцирования фитогормонов улучшают развитие корневых волосков и их поглотительную способность, в результате чего повышается эффективность минерального питания растений. Это позволяет на 20-30% снизить дозу удобрений и получать такой же урожай или даже выше. Все эти полезные свойства бациллы определяют высокую эффективность применения БисолбиФита и БисолбиСана на самых разных сельскохозяйственных культурах.

В опытах определяли влияние биопрепарата Экстрасол на основе штамма *Bacillus subtilis* 4-13 на эффективность действия аммиачной селитры под яровую пшеницу на дерново-подзолистой среднесуглинистой почве. Проводили микрополевой опыт в сосудах без дна Центральной опытной станции ВНИИА им. Д.Н.Прянишникова в Московской области. Почва опыта характеризовалась близкой к нейтральной реакцией среды (pH_{KCL} 6.3-6,4), что соответствует требованиям выращиваемой культуры. Содержание гумуса в пахотном слое почвы 2,1-2,4%, подвижного фосфора и подвижного калия – выше среднего (соответственно 164-178 и 170-190 мг/кг), поэтому фосфорное и калийное удобрения не вносили. В сосудах площадью 0,04 м² выращивали по 20 растений яровой пшеницы сорта Приокская. Аммиачную селитру в дозе 4,5 и 9,0 г на 1 кв. м (что соответствует 45 и 90 кг/га) вносили при набивке сосудов почвой. Закладку микрополевого опыта проводили по методике [Завалин, 2000]. Порошкообразная форма биопрепарата на основе штамма *Bacillus subtilis* 4-13 изготовлена в ГНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии. Обработку гранул аммиачной селитры штаммом *Bacillus subtilis* 4-13 проводили из расчета 20 г препарата на 2 кг удобрения. Для изучения использования растениями азота удобрений и источников азота в формировании урожайности яровой пшеницы в опыте использовали стабильный изотоп азота ¹⁵N в форме NH_4NO_3 , с обогащением 16,252 ат.% в обеих группах. Закладку опыта с изотопом азота, отбор проб растений, определение общего азота в растениях и последующее определение изотопного состава азота выполняли на масспектрометре МИ- 1301 согласно [Кореньков, 1999].

Полевой опыт закладывали на дерново-среднеподзолистой среднесуглинистой почве, имеющей pH_{KCL} 5,5-5,6, P₂O₅ (по Кирсанову)- 139-143 мг/кг, K₂O (по Кирсанову) – 127-137мг/кг, опытного поля Ивановской ГСХА согласно [Оценка эффективности микробных препаратов в земледелии, 2000].

При проведении обоих опытов в мае 2003 г. в начальный период вегетации проходил при количестве осадков и среднесуточной температуре воздуха близкой к среднегодовой норме. Во время кушения и трубкования яровой пшеницы (июнь) среднесуточная температура воздуха была на 1-2⁰С меньше, а количество осадков в 1,3-1.5 раза больше климатической нормы. В начале вегетации 2004 г. количество атмосферных осадков и среднесуточная температура воздуха были близки к среднегодовой норме. Во время кушения и трубкования среднесуточная температура воздуха уступала, а количество значительно превышало климатическую норму. Количество осадков в 2005 г. в начале вегетации превышало многолетнюю норму, но среднесуточная температура воздуха уступала ей. С фазы трубкования яровой пшеницы отмечался дефицит атмосферных осадков до уборки зерна.

Интегральным показателем, отражающим условия вегетации растений служит их урожайность [Шевелуха, 1992], которая зависит от уровня минерального питания и обеспеченности их влагой [Жученко, 1990; 2004]. В микрополевым опыте урожайность зерна значительно изменялась по годам, что было связано с погодными условиями вегетационного периода. В 2003 г. при значительном количестве атмосферных осадков в период активного нарастания биомассы растений получен максимальный сбор зерна яровой пшеницы из всех годов проведения опыта (табл. 2.79). С возрастанием доз азотного удобрения масса зерна увеличивалась с 23,8 до 39,0 г/сосуд. Использование биопрепарата положительно сказалось на урожайности зерна только при внесении азота в дозе 4.5 г/м².

Во второй год, когда погодные условия во вторую половину вегетации наблюдался избыток атмосферных осадков, яровая пшеница сформировала меньший урожай зерна. В этих условиях было не эффективно увеличение дозы азота с 4,5 до 9 г/м². Обработка гранул аммиачной селитры препаратом на основе *Bacillus subtilis 4-13* увеличила урожайность зерна при дозе 9 г/м², это возможно связано с тем, что при избытке атмосферных абсолютные потери азота при этой дозе были меньше и применение биопрепарата положительно отразилось на использовании растениями азота.

В 2005 г. при дефиците атмосферных осадков в период интенсивного роста растений сформировалась минимальная масса зерна яровой пшеницы, при этом максимальное ее количество получено при использовании аммиачной селитры, обработанной биопрепаратом. Вероятно, это связано с влиянием бактерий, входящих в состав биопрепарата, которые, как показано ранее [Воробейков, 1998; Воробьева, 2000; Байрамов, 2000], оказывают стимулирующее воздействие на растения в экстремальных условиях, выражающееся в продуцировании ряда физиологически активных веществ

[Кожемяков, Чеботарь, 2005]. В результате этого, достоверные прибавки урожайности зерна яровой пшеницы от использования биопрепарата составили 4,79 и 5,51 г/сосуд соответственно при вносимых дозах азотного удобрения.

В среднем за 3 года в микрополевым опыте обработка биопрепаратом гранул аммиачной селитры при обеих дозах ее внесения увеличила массу зерна на 22- 25% (табл. 2.79). Практически во все годы проведения микрополевого опыта при использовании биопрепарата возрастала масса соломы, в среднем за три года прибавка соответствовала значению НСР. Фитомасса (зерно + солома) яровой пшеницы возрастала при внесении азотного удобрения в обеих дозах. В среднем за 3 года от внесения 4,5 г/м² прибавка составила 16,0 и 19,3 г/сосуд при дозе 9 г/м², при этом использование биопрепарата увеличило фитомассу яровой пшеницы по первой дозе на 5,0 и 5,3 г/сосуд при второй. Это свидетельствует о том, что в результате нанесения на аммиачную селитру *Bacillus subtilis* 4-13 создаются лучшие условия для формирования не только массы зерна, но и фитомассы яровой пшеницы.

Таблица 2.79. Влияние аммиачной селитры на урожайность яровой пшеницы, среднее за 3 года. Микрополевого опыт

Вариант	Масса, г/сосуд				Прибавка				К _{хоз}
	Зерно				Солома	фитомасса	К фон у	от биопрепарата	
	2003 г.	2004 г.	2005 г.	средняя					
	в среднем за 2003-2005 гг.								
1. Без уд. (Ф)	23,8	21,9	17,7	21,9	33,6	55,5	-	-	0,40
2. Ф+N 4,5	32,3	28,7	22,2	27,7	42,4	70,1	5,8	-	0,38
3. Ф+N 9,0	39,0	28,5	21,9	29,7	43,8	73,5	7,8	-	0,39
4. Ф+N 4,5m*	37,2	28,7	27,0	30,2	45,1	75,1	8,2	2,4	0,37
5. Ф+N 9,0 m	35,5	35,4	27,4	32,1	46,7	78,8	10,2	2,4	0,41
<i>P</i> , %	4,0	5,4	2,0	2,7	2,3	1,7			5,6
<i>НСР</i> _{0,5}	4,1	4,7	1,4	2,3	2,8	3,6			0,07

*Примечание: здесь и далее **m** означает вариант с нанесением биопрепарата ризобактерий на гранулы аммиачной селитры.

Биопрепарат не изменял долю зерна в биологическом урожае, значение хозяйственного коэффициента по всем фонах удобренности составляло 0,37-0,41 (табл. 2.79).

Масса 1000 зерен яровой пшеницы определялась погодными условиями, при которых происходил налив, при недостатке атмосферных

осадков она получена минимальной. В результате внесения азотного удобрения имело место тенденция возрастания массы 1000 зерен (табл. 2.80). Использование биопрепарата положительно отразилось на увеличении массы 1000 зерен, особенно это явно прослеживалось при экстремальных для налива зерна погодных условиях 2005 года.

Содержание в зерне сырого белка определяется не только погодными условиями во время налива, но и обеспеченностью растений азотом. Как правило, при использовании средних доз азотного удобрения увеличивается урожайность зерна, а содержание белка в зерне не изменяется и только внесение высоких его доз приводит к повышению накопления в зерне белка [Павлов, 1984]. Примерно аналогичная закономерность по накоплению сырого белка в зерне яровой пшеницы получена в микрополевым опыте при внесении азотного удобрения в обеих дозах. Использование биопрепарата не отразилось на накоплении в зерне сырого белка, поскольку, вероятно, в ограниченном объеме почвы в сосуде растения испытывали дефицит доступного минерального азота для формирования белкового комплекса зерна.

Таблица 2.80. Показатели качества и химический состав зерна и соломы яровой пшеницы при внесении азотного удобрения, % на абс. сух. в-во. Среднее за 3 года. Микрополевым опытом

Вариант	Зерно				Солома		
	масса 1000 зерен, г	сырой белок	P_2O_5	K_2O	N	P_2O_5	K_2O
					%		
1. Без уд. (Ф)	30,7	10,2	0,83	0,57	0,60	0,23	1,36
2. Ф+N 4,5	32,4	9,9	0,83	0,60	0,61	0,25	1,51
3. Ф+N 9,0	32,9	9,7	0,86	0,59	0,62	0,24	1,51
4. Ф+N 4,5m	34,6	10,1	0,85	0,58	0,61	0,24	1,60
5. Ф+N 9,0 m	34,2	10,0	0,81	0,61	0,60	0,24	1,70

P , % 1,4

$HCP_{0,5}$ 1,3

Химический состав зерна яровой пшеницы слабо изменялся от использования азотного удобрения (табл. 2.80). При достаточном количестве атмосферных осадков в зерне накопилось больше фосфора, чем в год с их недостатком. В среднем за 3 года содержание в зерне фосфора составляло 0,81-0,86%. Концентрация калия в зерне яровой пшеницы составляла в среднем за три года 0,57-0,60% без существенных различий как по вариантам опыта, так по отдельным годам его проведения.

Дозы азотного удобрения и использование биопрепарата практически

не изменяли концентрацию азота в соломе яровой пшеницы. Концентрация фосфора, независимо от вариантов опыта, составляла во все годы 0,23-0,25%. Концентрация калия в соломе возрастала при обработке гранул аммиачной селитры биопрепаратом. Связано это с влиянием микроорганизмов на поглощение корневой системой калия и как следствие этого повышение устойчивости яровой пшеницы к патогенным микроорганизмам [Шульпина, 1998], положительно отразившееся на ее урожайности.

Накопление в урожае азота, фосфора и калия определяется массой зерна и соломы и концентрацией в них элементов минерального питания. Расчеты, проведенные в среднем за три года опыта, свидетельствуют о том, что в результате применения азотного удобрения и использования биопрепарата накопление в урожае яровой пшеницы элементов минерального питания возрастало в результате повышения массы зерна и соломы. Вынос азота с урожаем яровой пшеницы возрастал от внесения азотного удобрения с 580 до 845 мг/сосуд (табл. 2.80), а за счет использования биопрепарата накопление его в урожае было на 43% больше по дозе 4,5 кг/м² и на 26% - по дозе 9 кг/м². При этом в урожае на 16-19% повысилось накопление азота удобрения, определенное изотопным методом.

Подтверждением большего накопления растениями азота удобрения при нанесении биопрепарата на гранулы аммиачной селитры свидетельствуют значения коэффициента использования азота, полученные разностным методом и методом с использованием стабильного изотопа (табл. 2.81). За счет применения биопрепарата коэффициент использования азотного удобрения по дозе 4,5 кг/м² увеличился в 1,44 раза по разностному методу и в 1,15 раза по изотопному, по дозе 9 кг/м² соответственно в 1,28 и в 1,22 раза.

Увеличение коэффициента использования азота удобрений, определенное разностным методом, связано с дополнительным использованием растениями азота почвы. Это подтверждают результаты определения источников азота в формировании урожая зерна. Так при использовании биопрепарата увеличилась доля «экстра» азота в урожае яровой пшеницы при внесении обеих доз удобрения (табл. 2.81), но в этом случае, как отмечено ранее, возросла и доля азотного удобрения. «Экстра» азот [Кореньков, 1999; Назарюк, 2002; Завалин, 2005] может быть как дополнительно минерализованным азотом почвы в результате внесения азотного удобрения, а также биологическим азотом, фиксированным микроорганизмами, входящими в состав биопрепарата. Хотя схема опыта не позволяет вычлнить долю биологического азота, однако, можно допустить, что за счет применения биопрепарата накопление меченого азота удобрения

в урожае одинаково возросло при обеих дозах (табл. 2.82), то в составе «экстра» азота, количество которого в урожае яровой пшеницы по обеим дозам аммиачной селитры увеличилось за счет биопрепарата, то он включает как собственный «экстра» азот, так и биологический азот, возможно, фиксированный микроорганизмами.

Таблица 2.81. Использование яровой пшеницей азота (N), среднее за 3 года. Микрополевого опыт

Вариант	Вынос урожаям		КИ $N_{уд.}$, %		Доля источников N в урожае, %			Азотный индекс
	Всего мг/сосуд	^{15}N	разнос тный	по ^{15}N	почва	^{15}N удобре ния	«экстра»	
1. Без уд. (Ф)	580	-	-	-	100	-	-	0,65
2. Ф+N 4,5	741	79	89	44	78	11	11	0,65
3. Ф+N 9,0	790	83	58	23	73	11	16	0,66
4. Ф+N 4,5m	810	92	128	51	72	11	17	0,67
5. Ф+N 9,0 m	845	99	74	28	68	12	20	0,67

Об эффективности использования растениями азота свидетельствует значение азотного индекса, характеризующего долю азота, накопленного в зерне, от общего его содержания в урожае [Климашевский, 1991]. Чем выше значение азотного индекса, тем эффективнее используется азот для формирования хозяйственно ценной части урожая. Хотя и статистически не подтверждается увеличение значения хозяйственного коэффициента (табл. 2.81), однако отмечена слабая тенденция его увеличения при использовании биопрепарата, что может косвенно подтверждать роль микроорганизмов в перераспределении азота в яровой пшенице между вегетативными и генеративными органами [Кандаурова, 1997].

Таблица 2.82. Влияние биопрепарата на дополнительное использование яровой пшеницей азота, среднее за 3 года. Микрополевого опыт

Вариант	Азот общий		^{15}N удобрения	
	мг/сосуд	%	мг/сосуд	%
Ф+N45m	69	43	15	19
Ф+N90m	55	26	16	20

Накопление в урожае яровой пшеницы за счет внесения азотного удобрения возросло фосфора в 1,3-1,5 и калия в 1,3-1,6 раза (табл. 2.83), что связано преимущественно с увеличением массы зерна и соломы. При использовании биопрепарата вынос фосфора с урожаем яровой пшеницы

увеличился на 7-9%, калия на 17-19% по обеим дозам аммиачной селитры. Возрастание выноса объясняется улучшением азотного питания растений в результате внесения азотного удобрения и как следствие большее накопление в урожае фосфора и калия [Мосолов, 1979] и, вероятно, за счет повышения поглощения корневой системой почвенных запасов фосфора и калия при использовании биопрепарата на основе штамма *Bacillus subtilis* 4-13.

Таблица 2.83. Вынос урожаем яровой пшеницы фосфора и калия, среднее за 3 года. Микрополевой опыт

Вариант	P_2O_5			K_2O		
	всего, мг/сосуд	за счет биопрепарата		всего, мг/сосуд	за счет биопрепарата	
		мг/сосуд	%		мг/сосуд	%
1. Без уд. (Ф)	252	-	-	626	-	-
2. Ф+N 4,5	333	-	-	811	-	-
3. Ф+N 9,0	354	-	-	837	-	-
4. Ф+N 4,5m	364	31	9,3	950	139	17,1
5. Ф+N 9,0 m	378	24	6,7	999	162	19,3

В полевом опыте урожайность зерна яровой пшеницы в среднем за три года изменялась с 18,1 до 30,5 ц/га (табл. 2.84) и имело место такое же действие азотного удобрения и биопрепарата как в микрополевом опыте.

Таблица 2.84. Влияние аммиачной селитры на урожайность зерна яровой пшеницы, среднее за 2003-2005 гг. Полевой опыт

Вариант	Урожайность, ц/га					К хоз. ма	Прибавка зерна, ц/га	
	зерно				в среднем за 3 года		К фону	от препарата
	2003 г.	2004 г.	2005 г.	средняя				
1. $P_{30}K_{45}$ – фон	20,9	16,9	16,5	18,1	18,1	0,50	-	-
2. Фон + N_{45}	24,7	22,7	20,7	22,7	22,1	0,51	4,6	-
3. Фон + N_{90}	35,9	26,6	24,8	29,1	28,9	0,50	11,0	-
4. Фон + N_{45m}	25,8	24,7	22,7	24,4	24,7	0,50	6,3	1,7
5. Фон + N_{90m}	36,2	28,1	26,9	30,5	30,2	0,50	12,4	1,4
НСР ₀₅ , ц/га	1,3	1,1	1,4	1,3	1,8			

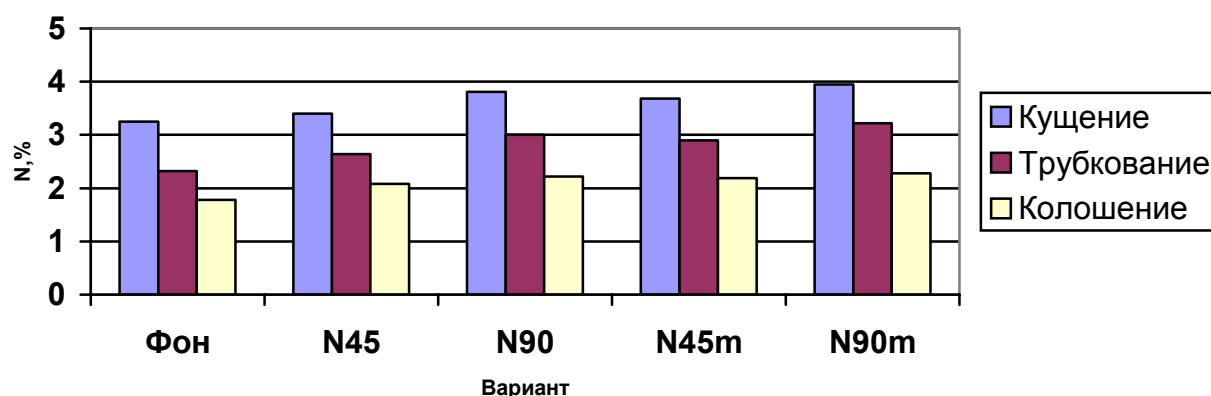
В благоприятном по погодным условиям 2003 г. урожайность зерна яровой пшеницы возрастала от внесения азотного удобрения в обеих дозах,

от нанесения биопрепарата на гранулы аммиачной селитры положительного эффекта в этих условиях не получено. При избытке атмосферных осадков во вторую половину вегетации в 2004 г., наряду с положительным действием азотного удобрения на урожайность яровой пшеницы, использование биопрепарата положительно сказалось на сборе зерна при обеих дозах аммиачной селитры. В 2005 г. при повышенном количестве атмосферных осадков в первую половину вегетации и при их дефиците во вторую, происходило увеличение урожайности зерна на 2,0-2,1 ц/га. При обобщении данных в среднем за три года установлено, что внесение азотного удобрения в дозе 45 кг/га увеличило урожайность зерна к фону РК на 4,6 ц/га. Повышение дозы азотного удобрения в два раза сопровождалось достоверным увеличением урожайности зерна, прибавка составила 11,0 ц/га. При нанесении препарата на аммиачную селитру в дозе 45 кг/га дополнительный сбор зерна от этого приема составил 1,7 ц/га. При дозе азота 90 кг/га применение биопрепарата обеспечило увеличение урожайности только на 1 ц/га.

Анализ данных сбора побочной продукции позволил выявить те же закономерности, что и по урожайности зерна. Сбор соломы возрастал при нанесении препарата *Bacillus subtilis* на аммиачную селитру, однако этот прием не влиял на значение хозяйственного коэффициента (табл. 2.84).

Содержание азота в растениях определялись как применением

Рисунок 2.2. Динамика содержания азота в растениях яровой пшеницы, среднее за 3 года



минеральных удобрений, так и использованием биопрепарата (рис. 2.2).

Положительное действие от нанесения биопрепарата на аммиачную селитру на содержание азота в растениях начинает проявляться с фазы кущения и сохраняется до колошения. Это свидетельствует об улучшении потребления азота яровой пшеницей из почвы и удобрения, а также за счет возможной его фиксации микроорганизмами из атмосферы.

В полевом опыте содержание сырого белка в зерне яровой пшеницы повышалось при внесении азотного удобрения с 9,4 до 11,5-12,4% (табл. 2.85). Использование биопрепарата при дозе аммиачной селитры 45 кг/га обеспечило тенденцию повышения содержания сырого белка в зерне с 11,5 до 12,3 % и с 12,4 до 12,7 % дозе 90 кг/га. В зерне яровой пшеницы не происходило от применения азотного удобрения и биопрепарата существенных изменений концентрации фосфора и калия (табл. 2.85). Азотное удобрение увеличивало концентрацию азота в соломе, при этом отмечена тенденция ее повышения в результате обработки аммиачной селитры биопрепаратом при дозе 45 кг/га. Концентрация фосфора и калия в побочной продукции от использования азотного удобрения и биопрепарата не изменялась.

Таблица 2.85. Влияние азотного удобрения на химический состав урожая яровой пшеницы, % на сухое вещество. Среднее за 3 года. Полевой опыт.

Вариант	Зерно			Солома		
	сырой белок	P ₂ O ₅	K ₂ O	N	P ₂ O ₅	K ₂ O
1. P ₃₀ K ₄₅ -фон	9,4	0,84	0,60	0,52	0,29	1,10
2. Фон + N ₄₅	11,5	0,85	0,61	0,59	0,30	1,12
3. Фон + N ₉₀	12,4	0,86	0,63	0,69	0,29	1,14
4. Фон + N _{45m}	12,3	0,86	0,64	0,65	0,32	1,17
5. Фон + N _{90m}	12,7	0,83	0,64	0,70	0,31	1,16

В результате увеличения урожая основной и побочной продукции яровой пшеницы и изменения концентрации азота в зерне и соломе при использовании азотного удобрения и применения биопрепарата на удобрении вынос азота с урожаем повышался с 38,8 до 89,4 кг/га (табл. 2.86).

Таблица 2.86. Действие азотного удобрения и биопрепарата на использование растениями яровой пшеницы азота. Среднее за 3 года. Полевой опыт

Вариант	Вынос азота, кг/га			Увеличение к фону РК, кг/га	Азотный индекс	КИ Нуд., %
	зерно	солома	зерно + солома			
1. P ₃₀ K ₄₅ – фон	29,7	9,2	38,9	-	0,76	-
2. Фон + N ₄₅	46,2	13,1	59,3	20,4	0,77	46,2
3. Фон + N ₉₀	63,5	18,1	81,6	42,7	0,77	47,9
4. Фон + N _{45m}	53,6	15,9	69,5	30,6	0,77	68,4
5. Фон + N _{90m}	68,6	20,8	89,4	50,5	0,76	56,3

При этом максимальное увеличение выноса азота с урожаем получено при использовании обработанной аммиачной селитры при дозе 90 кг/га. Возрастание выноса азота в результате применения биопрепарата связано как с вовлечением в агроценоз биологического азота, фиксированного микроорганизмами, так и использования растениями почвенных запасов этого элемента, а также повышением использования растениями азота удобрений. Последнее подтверждает значение коэффициента использования азота из удобрения, который возрастал по дозам азотного удобрения соответственно в 1,48 и 1,18 раза (табл. 2.86). Это свидетельствует о лучшем использовании растениями азота на формирование урожая яровой пшеницы, при этом сокращаются его потери, что имеет не только экономическое, но и экологическое значение [Кореньков, 1999]. Применение биопрепарата на гранулы азотного удобрения не изменяло перераспределение азота между вегетативными и генеративными органами яровой пшеницы: значение азотного индекса было 0,76 – 0,77.

Таким образом, нанесение биопрепарата, созданного на основе штамма *Bacillus subtilis* Ч-13, улучшает азотное питание яровой пшеницы, что положительно сказывается на повышении урожайности зерна, при этом биопрепарат эффективнее при внесении аммиачной селитры в дозе 45 кг/га. Внесение под яровую пшеницу аммиачной селитры, обработанной биопрепаратом, увеличивает коэффициент использования растениями азота удобрения, повышается накопление в урожае не только азота, но и фосфора и калия.

Заключение

Оценка эффективности использования биопрепарата экстрасол проведена в различных почвенно-климатических условиях Российской Федерации и сопредельных государств на яровой пшенице, озимой пшенице, озимой ржи, ячмене, горохе, гречихе, картофеле, льне-долгунце, подсолнечнике, хлопчатнике, табаке и некоторых овощных культурах.

Выявлено, что обработка до посева семян биопрепаратом, созданном на основе бактерий рода *Bacillus* повышает всхожесть семян и энергию их прорастания, увеличивает устойчивость растений в период вегетации к неблагоприятным факторам внешней среды.

Озимые зерновые культуры, выращиваемые с использованием биопрепарата, лучше сохраняются при перезимовке в результате повышения устойчивости к болезням. Использование биопрепарата способствует снижению пораженности растений грибковыми заболеваниями и другими болезнями. В период вегетации за

счет деятельности микроорганизмов, входящих в состав биопрепарата, повышается обеспеченность растений азотом и другими элементами минерального питания, интенсивнее происходит накопление надземной фитомассы растений и корневой системы.

В результате лучших условий роста и развития растений при использовании биопрепарата экстракол повышается урожайность растений на 10-45%, эквивалентно внесению под культуры азотного удобрения в дозе 30-45 кг/га, то есть обеспечивает дополнительное вовлечение в агроценозы биологического азота, а также фосфора и калия за счет почвенных запасов. За счет повышения урожайности и увеличения накопления в урожае элементов питания возрастает коэффициент использования азота и других элементов питания из минеральных удобрений и их оплату прибавкой урожая.

Нанесение биопрепарата, созданного на основе штамма *Bacillus subtilis* Ч-13, улучшает азотное питание яровой пшеницы, что положительно сказывается на повышении урожайности зерна, при этом биопрепарат эффективнее при внесении аммиачной селитры в дозе 45 кг/га. Внесение под яровую пшеницу аммиачной селитры, обработанной биопрепаратом, увеличивает коэффициент использования растениями азота удобрения, повышается накопление в урожае не только азота, но и фосфора и калия.

Глава 3. Использование биопрепаратов группы экстрасол при хранении сельскохозяйственной продукции

3.1. Состояние проблемы применения биологических средств защиты растительной продукции от фитопатогенов при хранении

Одной из основных причин потерь растительной продукции при хранении является микробиальная порча. Холодильное хранение при температурах, близких к криоскопической, замедляет развитие бактерий и грибов, но не исключает поражения продукции психрофильными микроорганизмами. Для снижения потерь от микробиальной порчи рекомендуют различные дополнительные к холоду средства: ультрафиолетовое или радиационное облучения, озонирование, применение химических препаратов, регулируемые и модифицированные газовые среды и т.д. Однако, все перечисленные средства обладают рядом недостатков (возможность возникновения различных токсичных веществ, нарушение обмена веществ в растительных тканях, требование дифференцированного подхода к каждому виду и сорту продукции, высокая стоимость техники и многие другие недостатки, которые сдерживают их широкое промышленное применение).

Применение химических средств защиты при хранении растительной продукции особенно ограничено, поскольку картофель, плоды и овощи являются отделенными от материнского растения и их способность детоксицировать ядовитые вещества выражена слабо.

Хорошо известна роль пестицидов в борьбе с болезнями и вредителями сельскохозяйственных растений при вегетации. Но пока еще ни один пестицид не нашел широкого применения для защиты картофеля и овощей от болезней непосредственно при хранении. Сравнительно легко уничтожить подавляющую часть фитопатогенных микроорганизмов, всегда присутствующих на поверхности растительных продуктов, но гораздо труднее не ослабить при этом присущую им естественную болезнеустойчивость. А так как после обработки пестицидами какая-то часть микроорганизмов все же сохраняется, причем сохраняется наиболее агрессивная, то растительные ткани с ослабленной устойчивостью еще сильнее ими поражаются, особенно при длительном хранении продукции. То же имеет место при использовании не только пестицидов, но и ряда физических воздействий, например, ионизирующей радиации.

Повсеместное снижение количества и частоты применения пестицидов заставляет ведущие исследовательские центры искать альтернативные способы снижения патогенеза сельхозпродукции, закладываемой на

хранение.

Помимо высокой эффективности препараты, используемые для этих целей, должны быть нетоксичными, быстро разлагаться, не приводить к аллергическим реакциям, быть дешевыми и удобными в применении. Из всех известных на сегодняшний день именно микробиологические препараты на основе высокоэффективных штаммов могут решить все сформулированные выше проблемы.

Эффективное направление в развитии биологического метода – разработка методов борьбы с фитопатогенными организмами в послеуборочный период и при длительном холодильном хранении, в частности, путем применения биопрепаратов на основе активных штаммов антагонистов. Наиболее перспективными группами антагонистов, подавляющих рост и развитие патогенной микрофлоры, являются бактерио-антагонисты родов *Pseudomonas*, *Bacillus*, у которых выявлен хорошо развитый синтез биологически активных соединений, что обеспечивает им высокую конкурентоспособность, лабильность свойств и адаптивность.

Во ВНИИСХМ на основе данных микроорганизмов создана группа биопрепаратов под торговой маркой Экстрасол. В процессе апробации опытов установлено комплексное действие препарата, направленное на воспроизводство почвенного плодородия, повышения продуктивности и экологической безопасности земледелия. Применение Экстрасола сразу после сбора урожая предотвращает активное развитие эпифитной патогенной микрофлоры картофеля и овощей, препятствует их проникновению вглубь тканей. Конкуренция между бактериями-антагонистами и фитопатогенами наблюдается уже на самых ранних стадиях инфекционного процесса. Антагонисты не только супрессируют фитопатогенные грибы и бактерии, но и индуцируют системный ответ растения на воздействие патогенов, активизируют их собственный иммунитет.

Применение биологических средств защиты плодов и овощей от грибных и бактериальных инфекций при длительном хранении продукции является перспективной отраслью научных исследований и практического применения. В результате многочисленных и всесторонних исследований, проведенных различными авторами, выделен набор штаммов антагонистов инфекций, поражающих различные виды сельскохозяйственной продукции на отдельных стадиях её производства и хранения, в частности: цитрусовых [McGuire, Hagenmaler, 1995], косточковых плодов [Pusey, Wilson, 1983, 1982, Wilson, Franklin, 1987], яблок [Andrews, Berbee, 1983, Janisiewicz, Roitman, 1988, Tronsmo, Ystaas, 1980], винограда [Боронин, Кочетков, 2000, Dubos, Jailloux, 1982], зерновых культур [Боронин, Кочетков, 2000, Frandberg,

Schirees, 1992, Schnurer, Bjonberg, 1992], ананасов [Lim, Rohrback, 1980], земляники [Andrews, Berbee, 1983, Janisiewicz, Wilson, 1990].

Так, для земляники эффективны бактерии *Trichoderma viridae*, осуществляющие частичный контроль развития серой гнили, вызываемой грибом *Botrytis cinerea* [Bhatt, Vaugham, 1982], при использовании *Clivium roseum* удается сократить рост патогенного гриба на 97 – 100 % [Хлопцева, 1995]. Развитие этого возбудителя вызывает значительные потери земляники при ее, даже непродолжительном хранении и максимально щадящих условиях транспортировки [Janisiewicz, Wilson, 1990]. Частичный контроль над этим возбудителем, поражающим также семечковые плоды (например, яблоки), достигнут применением водной суспензии конидий *Trichoderma harzianum* путем опрыскивания садов сразу же после цветения [Tronsmo, Ystaas, 1980]. Обработка ягод винограда штаммом *Trichoderma species M-10* снижает потери от серой гнили, вызванной *Botrytis cinerea*, при хранении в 2 раза. Плоды яблони с механическими повреждениями, обработанные штаммом *Candida species Y-4*, не поражались при хранении серой и голубой гнилями [Тодираш, Паскарь, Буйминстру, 1994].

Бактерии *Pseudomonas fluorescens*, *Agrobacterium radiobacter* [Glodowski, Galsky, 1978, Htay, Kerr, 1974] способны ингибировать развитие опухолей персиков, томатов и др.

Pusey [Pusey, Wilson, et al, 1986] показал эффективность штамма *Bacillus subtilis B-3* как компонента воскового покрытия персиков при закладке их на хранение. Биологический контроль сохраняемости персиков, осуществляемый с помощью этого штамма, хорошо сочетается с применением фунгицидов бенмила, предотвращающего развитие возбудителей коричневой гнили персиков и/или дихлорана для контроля роста и развития грибов рода *Rhizopus*.

Лубенцева Т.Г. и др. [1994] рекомендуют обрабатывать семенной картофель перед закладкой на хранение биопрепаратами бактофит, ризофит, а также штаммами 01, 02, 03 культур рода *Pseudomonas* для лучшей сохраняемости картофеля за счет снижения отходов от фузариозной гнили.

Colyer P.D. и Mount M.S. [1984] показали, что обработка семенного картофеля бактериальной суспензией *Pseudomonas putida* перед посадкой снижает на 50% развитие сухой гнили клубней при хранении.

Вызывает значительный интерес поиск антагонистов комплексу болезнетворных микроорганизмов. Так, например, в комплексе патогенов, наносящих существенный урон при длительном хранении яблок, входят: *Botrytis cinerea*, *Mycor spp.*, *Uleospodium perennans*, *Phialophora malorum*, *Penicillium expansum* и некоторые другие. Наибольший экономический ущерб от этого комплекса патогенов наносится хранящейся продукции, по мнению

Janisiewies W.J. [1988] грибами *Botrytis cinerea* и *Penicillium expansum*. В результате исследований *in vitro* и *in vivo* на зрелых плодах сорта Golden Delicious авторами была избрана следующая комбинация штаммов-антагонистов: *Pseudomonas* spp. штамм 22-64 и *Acremonium breve*, выделенные из смывов яблоневых листьев. При их применении наблюдается значительное уменьшение диаметра зон поражения на фруктах, а концентрации клеток-антагонистов $8-9 \cdot 10^6$ КОЕ/мл предотвращали развитие поражений фруктов, обработанных спорами возбудителя в концентрации 10^3 КОЕ/мл. Как один, так и другой штамм по отдельности, обладали значительной антагонистической активностью.

В процессе поиска новых штаммов-антагонистов и разработки биопрепаратов на их основе необходимо учитывать технологические условия применения препаратов, при которых достигается максимальный антагонистический эффект. В работах румынских ученых [Tasca, Vogoescu, 1990] изложены результаты исследований *in vitro* спектра действия препарата на основе биомассы *Trichoderma viride* на 5 патогенных микроорганизмов, вызывающих порчу яблок, картофеля и моркови. Исследованы наиболее часто встречающиеся патогенные грибы: *Monilia laxa* и *Botrytis cinerea* в яблоках, *Fusarium roseum* var. *sambucium* в картофеле и *Sclerotinia sclerotiorum* и *Stemphlulium radicinum* в моркови. Биопрепарат проявлял антагонистическое действие по отношению к исследуемым грибам только при температуре 8, 10, 18 °С. Рост грибов *Monilia laxa* и *Sclerotinia sclerotiorum* замедлялся под влиянием биопрепарата (0,2 %) только при температуре 10, 18 °С.

Методы биологического контроля над возбудителями заболеваний сельскохозяйственной продукции чрезвычайно разнообразны: обработка культуральной жидкостью микробов - антагонистов [Кономиец, Здор, 1994, Matteson, Burr, Smith, 1994, обработка лиофильно высушенными культурами [Гречкин, Тарчевский, 1999], использование биологически активных веществ, выделяемых микробами антагонистами [Кузнецов, Гдалова, 1991, Шенин, Белых, Рожкова, 1996, Lorito, Hayes, Di P., Woo, Harman, 1994], а также препаратами из них [Гаврилов, 1995, Нугманова, 1994, Третьяков и др., 1995, Шенин и др., 1995, Hofstein, Fridlender, 1994, Jarosz, Lipa, 1995].

R.J. Mchaughlin проведены исследования с дрожжами *Candida* sp. при защите яблок сорта Golden Delicious от возбудителей послеуборочных гнилей, таких как *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum*. При добавлении к суспензии дрожжей $CaCl_2$ эффективность антагониста значительно повышалась. Преимуществом ряда дрожжевых препаратов является способность их клеток расти при низкой температуре (+5°C), что близко к оптимальному температурному режиму хранения семечковых плодов. В

исследованиях с плодами груши при концентрациях клеток *Pseudomonas gladioli* 10^8 КОЕ/мл развитие *Botrytis cinerea* задерживалось, а при более высокой (10^9 КОЕ/мл) фитопатоген вообще не развивался.

Промышленные способы хранения, транспортировки предусматривают формирование на специальных поточных линиях вокруг собранных плодов тонкой восковой оболочки, служащей дополнительным барьером против проникновения к сочным плодам спор и мицелия грибов-возбудителей. Эта же оболочка предотвращает, в некоторой степени, механические повреждения и обезвоживание плодов.

В большинстве случаев в воскоподобное вещество, из которого формируется оболочка, добавляют фунгициды, такие как беномил, предотвращающий развитие возбудителей коричневой гнили персиков, или дихлоран, для контроля роста или развития грибов рода *Rhizopus*. Даже при соблюдении всех этих условий общее время хранения и транспортировки персиков составляет 2-3 недели после уборки, причем хранение осуществляется в холодильных камерах с регулируемой газовой средой. Авторы провели ряд опытов с чистыми культурами, сравнивая действие существующих способов послеуборочного хранения плодов на развитие патогенов с действием выделенного штамма *Bacillus subtilis* В - 3.

В результате исследований было показано, что обработка воском в комбинации с обработкой штаммом В - 3, вела к статистически достоверному уменьшению зараженности плодов по сравнению с контрольными вариантами (обработка воском и воском с фунгицидами), а также к уменьшению диаметра зон поражения плодов. Исследовалась возможность комбинированного применения штамма В - 3 с дихлораном и этой комбинации в составе восковой оболочки. Установлено, что В - 3 в комбинации с дихлораном значительно усиливает фунгицидный эффект послеуборочного хранения плодов, особенно в условиях холодильных камер.

Таким образом, биологический контроль развития возбудителей в тканях плодов может быть успешно совмещен с уже имеющимися методами защиты. В то же время, биометод успешно конкурирует с химическими методами, не обладая их недостатками - "привыкание" возбудителя, токсичностью и т.п. Так, для борьбы с *Rhizopus stolonifer* (активный раневый паразит) до настоящего времени использовали фунгициды, обработку горячей водой, восковое покрытие с добавлением фунгицидов, хранение при низких температурах. Возбудитель *R. stolonifer* не развивается при температуре ниже $+7^{\circ}\text{C}$, однако, когда температуру повышают при доставке и продаже фруктов потребителю, они могут полностью прийти в непригодность в течение 40-48 ч. В последние годы отмечено массовое появление устойчивых к фунгицидам штаммов грибов *R. stolonifer*. В связи с

этим было проанализировано около 13 бактериальных изолятов - потенциальных антагонистов *Rhizopus*, и только один из них обладал эффектом на уровне действия фунгицида дихлорана. Этот единственный бактериальный штамм был идентифицирован как *E. cloacae*. Развитие заболевания на искусственно инфицированных фруктах ингибировалось штаммом-антагонистом на 70 %. Основная масса обработанных фруктов хранилась без поражений при комнатной температуре не двое, а пять суток, некоторые фрукты - до восьми.

Многие авторы [Janisiewicz, 1987, Tasca, Bogoescu, 1990, Wilson, Franklin, 1987, Wilson, Franklin, 1986], производившие отбор активных штаммов, подавляющих рост и развитие инфекций, отмечали, что некоторые бактериальные изоляты, проявляющие высокую антагонистическую активность в условиях культивирования на искусственных питательных средах *in vitro*, теряли или не проявляли способность к биоконтролю при проверке ее в модельных опытах на овощах и фруктах *in vivo*, в условиях, приближенных к практическому способу применения. Так, среди 534 изолятов, проанализированных Janisiewicz W.J. *in vitro*, как потенциальных антагонистов *Botrytis cinerea*, только 185 было отобрано для опытов *in vivo* и только один, идентифицированный как *Acremonium breve*, соответствовал коммерческим требованиям контроля над патогеном [Janisiewicz, 1988]. Тем же автором было протестировано в лабораторных условиях более 800 штаммов потенциальных антагонистов серой гнили сочных плодов, вызываемой *Penicillium expansum* (пенициллез), выделенных из природных источников. Janisiewicz W.J. были выделены два наиболее активных штамма, идентифицированных как *Pseudomonas* spp. штамм L-22- 64 и дрожжевой изолят F-43-31. Всесторонняя проверка этих штаммов показала, что они в концентрации выше $1-4 \cdot 10^8$ КОЕ/мл полностью подавляли развитие возбудителя, независимо от концентрации его спор, используемых как инфекционный фон [Janisiewicz, 1987].

Wilson C.L. и Franklin J.D. [1987] отмечают, что среди семидесяти штаммов, исследованных в тестах *in vitro*, только тринадцать проявляли активность в отношении *Rhizopus stolonifer* *in vivo*, и только один из них на уровне коммерческого применения, сравнимого с действием фунгицида дихлорана.

В связи с этим нами ранее были проведены всесторонние исследования отобранных в опытах *in vitro* штаммов, включая эксперименты на инфекционном фоне на картофеле и моркови, интактных и с нанесением искусственных повреждений при различных режимах хранения [Кипрушкина и др., 2003, Кипрушкина, Колодязная, 2003, Колодязная, Кипрушкина, 1998]. Штаммы, исследованные в модельных опытах *in vivo* и

обладающие антагонистической активностью различного спектра действия в отношении фитопатогенов клубнекорнеплодов, были использованы для дальнейшей работы по исследованию их влияния на защитные механизмы и физиологическое состояние продуктов растительного происхождения при длительном холодильном хранении.

Эти и многие другие примеры показывают, что в последние годы исследованиям в области биоконтроля патогенеза сельскохозяйственной продукции уделяется все более пристальное внимание.

Таким образом, перспективность применения микробов-антагонистов против фитопатогенов растительной продукции при ее длительном хранении очевидна.

3.2. Влияние биологических средств на защитные механизмы и физиологическое состояние продуктов растительного происхождения при длительном холодильном хранении

Объектами микробиологического исследования выбраны бактерии-антагонисты родов *Pseudomonas*: *Pseudomonas species* штамм 115, штамм 35, штамм 73, *Pseudomonas fluorescens* штамм 228, штамм 15, штамм КО, штамм 7, штамм 4, *Pseudomonas aureofaciens* штамм 35 и *Bacillus*: *Bacillus species* штамм 083, *Bacillus subtilis* штамм Ч13, *Bacillus megatherium*, являющиеся активными биоагентами препарата Экстрасол.

3.2.1. Картофель

Для выявления влияния обработки картофеля бактериями-антагонистами на защитные реакции клубней в лечебный период и при длительном холодильном хранении, исследовали процесс субернизации (фотоколориметрический метод), определяли количество слоев раневой перидермы (микроскопический метод), содержание фенольных соединений (хроматография) и пектиновых веществ (карбазольный метод), изучали изменения активности ферментов – каталазы (титриметрический метод), монофенолоксидазы (метод ацетоновых препаратов), фенолоксидазы и пероксидазы (микрометод Д.Михлина и З.Броновицкой).

В производственных условиях картофель сортов Невский и Детскосельский хранили при температуре $(3\pm 1)^\circ\text{C}$ и относительной влажности воздуха (ОВВ) 90-95 % в течение 8 месяцев. Перед закладкой на хранение картофель обрабатывали путем опрыскивания бактериальной суспензией антагонистов рода *Pseudomonas*: Ps.sp.35, Ps.sp.73, Ps.sp.115,

Ps. fluorescens 15, *Ps. fluorescens* КО, *Ps. aureofaciens* 35 (титр 10^8 кл/мл).
Расход бактериальной суспензии 1-3 л/т.

Исследовали также влияние данных биоагентов препарата Экстрасол на поражаемость картофеля инфекционными заболеваниями (товароведный и фитопатологический анализы [ГОСТ 7176-85]) и на физиолого-биохимические изменения, протекающие в растительной ткани клубней, которые оценивали по изменению витамина С (метод Тильманса), нитратов (ионоселективный метод) и интенсивности дыхания (титриметрический метод).

Механические поранения клубней при уборке урожая являются одной из причин высоких потерь при хранении и резкого ухудшения качества картофеля. Реакция на поранение - одна из самых распространенных защитных реакций среди растений. В результате ее на местах поранения клубней образуется раневая перидерма, которая является надежным барьером против неблагоприятных внешних воздействий, в частности, против фитопатогенов. Раневая перидерма представляет собой сложный комплекс тканей, состоящий из вторичной меристемы, феллогена, живых клеток - феллодермы, и частично живых, частично опробковевших клеток феллемы.

Защитная роль перидермы как механического барьера на пути проникновения фитопатогенных микроорганизмов обусловлена анатомическим строением составляющих ее клеток, практически лишенных межклетников, сцементированных суберином клеток феллемы.

Оптимальными условиями для образования раневой перидермы являются температура воздуха около 18°C , относительная влажность воздуха близкая к 100%, свободный доступ кислорода к поврежденным клеткам [Метлицкий, 1976]. При более низкой температуре процесс образования раневой перидермы и синтез суберина существенно замедляются, что снижает защитные функции клубня. Вследствие этого вопросы интенсификации раневых реакций картофеля в послеуборочный период имеют исключительно важное значение для сохранения урожая.

При исследовании влияния обработки механически поврежденных клубней картофеля бактериальной суспензией на накопление суберина в перидермальной пленке получены следующие результаты: к концу лечебного периода, протекающего при температуре $(18 \pm 1)^{\circ}\text{C}$, в раневой перидерме клубней накапливается значительное количество суберина, причем в партиях картофеля, обработанного бактериями-антагонистами рода *Ps. sp.* штамм 115 и *Ps. aureofaciens* штамм 35, содержание суберина выше, чем в контроле (рис.3.1).

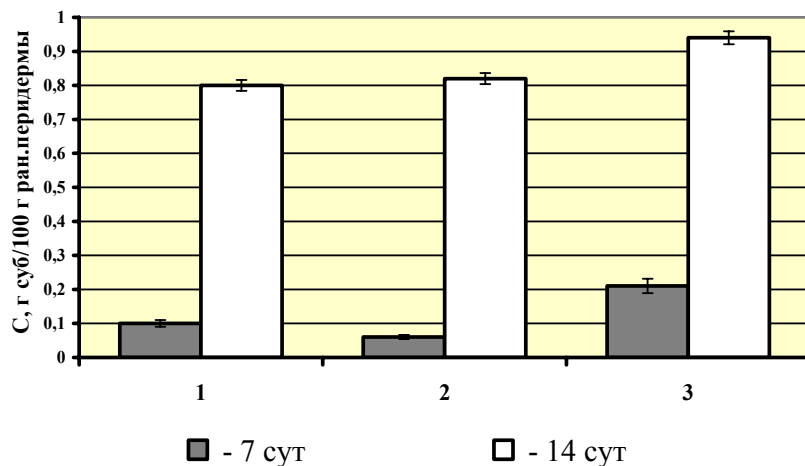
При температуре хранения $(3\pm 1)^\circ\text{C}$ (рис.3.2) процесс накопления суберина сильно подавлен, даже на 21 сут хранения его количество незначительно. В раневой перидерме клубней, обработанных *Ps.aureofaciens* штамм 35, количество суберина меньше, чем в контроле. В партии, обработанной *Ps.sp.* штамм 115, суберина на 21 сут хранения практически достигает уровня содержания суберина при благоприятных условиях протекания процесса в контроле на 14 сут хранения.

Таким образом, обработка механически поврежденных клубней бактериями рода *Ps.sp.* штамм 115 активизирует биосинтез суберина даже при неблагоприятных низкотемпературных условиях проведения эксперимента.

Было исследовано влияние обработки механически поврежденных клубней бактериальной суспензией на образование раневой перидермы. Раневая перидерма опытных образцов отличается большим числом клеточных рядов, клетки более мелкие, лишены межклетников, перидерма более плотная, труднее отделяется от мякоти. При температуре хранения $(3\pm 1)^\circ\text{C}$ раневая перидерма опытных образцов через 14 сут хранения не уступает по количеству рядов раневой перидермы контрольных образцов, хранившихся при температуре $(18\pm 1)^\circ\text{C}$. Среднее число слоев раневой перидермы составляет 4-6 в контрольных вариантах и 6-8 в опытных образцах (табл. 3.1). Таким образом, исследуемые антагонисты выступают индукторами реакций раневого заживания клубней.

Таблица 3.1 Количество слоев раневой перидермы клубней картофеля, обработанных бактериальными суспензиями

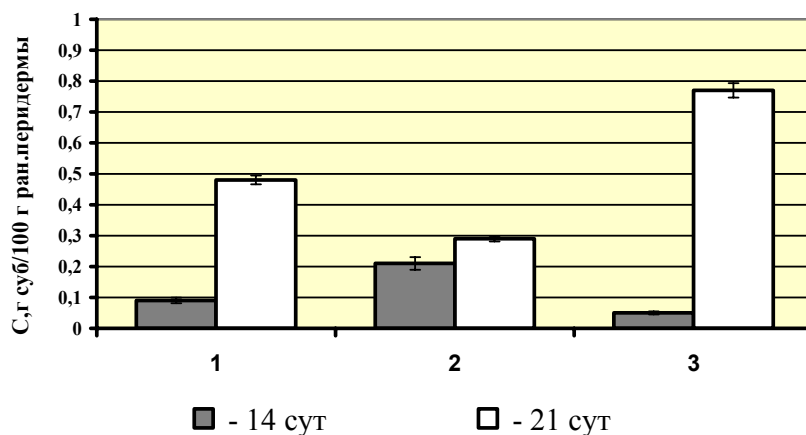
Партия	$t=(18\pm 1)^\circ\text{C}$		$t=(3\pm 1)^\circ\text{C}$	
	7 сут	14 сут	7 сут	14 сут
Контроль	1-2	4-5	0-1	1-3
<i>Ps.aureofaciens</i> шт.35	4-5	5-7	3-4	4-5
<i>Ps. Sp.</i> шт. 115	3-5	6-7	2-3	4-5



1 -

контроль; 2- *Ps. aureofaciens* 35; 3 - *Ps. sp.* 115

Рисунок 3.1. Накопление суберина в раневой перидерме клубней картофеля сорта Невский в лечебный период при $t = (18 \pm 1) ^\circ\text{C}$



1

- контроль; 2- *Ps. aureofaciens* 35; 3 - *Ps. sp.* 115

Рисунок 3.2. Накопление суберина в раневой перидерме клубней картофеля сорта Невский при $t = (3 \pm 1) ^\circ\text{C}$.

Однако, судить о влиянии метаболитов бактерий-антагонистов на защитные механизмы клубней недостаточно по раневой перидерме и количеству суберина. Зона поранения клубня служит местом активных процессов биосинтеза. Помимо суберина в пораненных тканях в ходе формирования перидермы образуются фунгитоксичные вещества, создающие химический барьер на пути проникновения инфекции, к числу которых относятся хлорогеновая и кофейная кислоты, скополетин, чаконин, соланин и др. [Медведева, 1971]. Некоторые фенольные соединения и их производные стимулируют процесс образования раневой реакции. Хлорогеновая, п-кумаровая и феруловая кислоты ускоряют процесс суберинизации [Запрометов, 1993, Метлицкий, 1976], а кофейная кислота его

подавляет [Метлицкий, 1976].

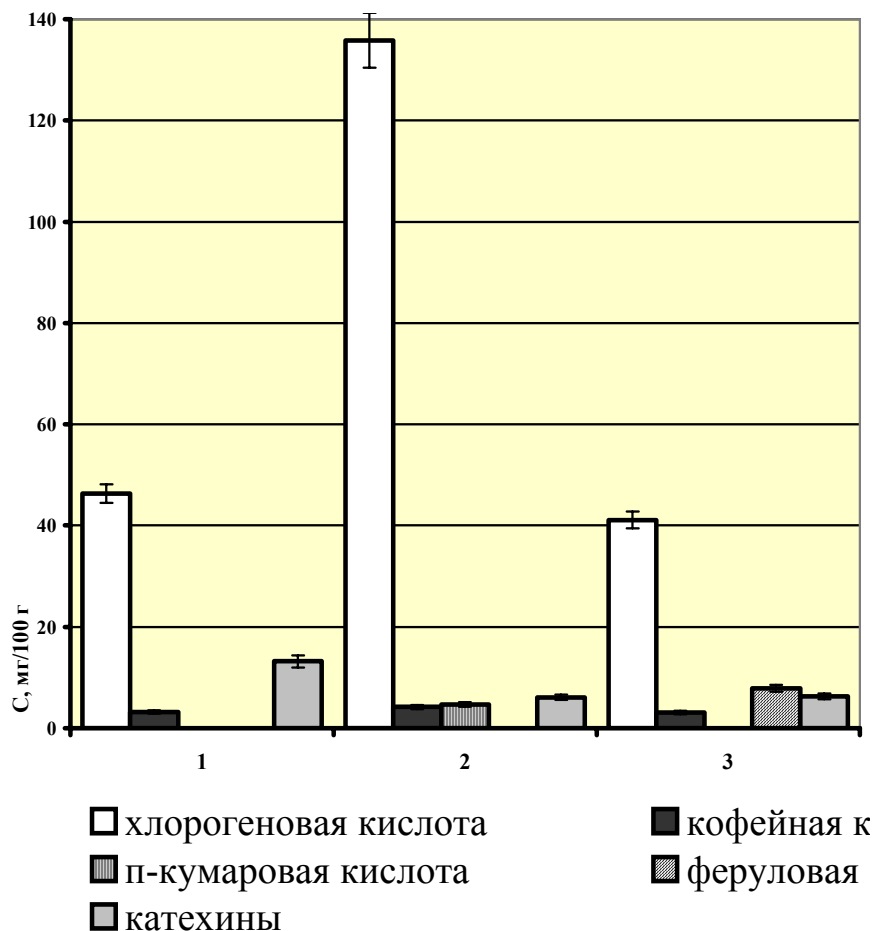
Устойчивость растительных тканей к поражению теми или иными патогенами часто коррелируется с высоким содержанием в их тканях фенольных соединений. Многие растения синтезируют характерные для их метаболизма фенольные соединения, обладающие фунгицидной активностью. Участие фенольных соединений в защитных реакциях растений безусловно.

Регенерация поврежденных тканей сопровождается резким усилением интенсивности биосинтеза фенольных соединений в местах, прилегающих к поверхности поранения. Новообразованные фенольные соединения вовлекаются в процессы полимеризации или сополимеризации, приводящие к созданию защитного слоя. Фенольные соединения принимают активное участие в синтезе лигнина, который входит в состав суберинизированных клеток [Запрометов, 1993].

Результаты исследования по влиянию обработки механически поврежденных клубней картофеля сорта Невский бактериями рода *Ps. aureofaciens* штамм 35, *Ps.sp.* штамм 115 на накопление фенольных соединений в раневой перидерме клубней в лечебный период представлены на рис. 3.3 и 3.4.

Из полученных результатов следует, что суммарное содержание фенольных соединений в опытных партиях картофеля значительно выше, чем в контроле. Видны и качественные различия фенольных соединений. Так, в контроле при температуре хранения $(18\pm 1)^\circ\text{C}$ обнаружены хлорогеновая, кофейная кислоты и катехины. В клубнях, обработанных *Ps. aureofaciens* 35, появляется п-кумаровая кислота, а при обработке штаммом *Ps.sp.* 115 присутствует и феруловая кислота. Состав фенольных соединений при температуре $(18\pm 1)^\circ\text{C}$ во всех партиях картофеля не изменяется, как на 7-е, так и на 14 сут хранения. Содержание хлорогеновой кислоты во всех опытных партиях в середине лечебного периода наибольшее.

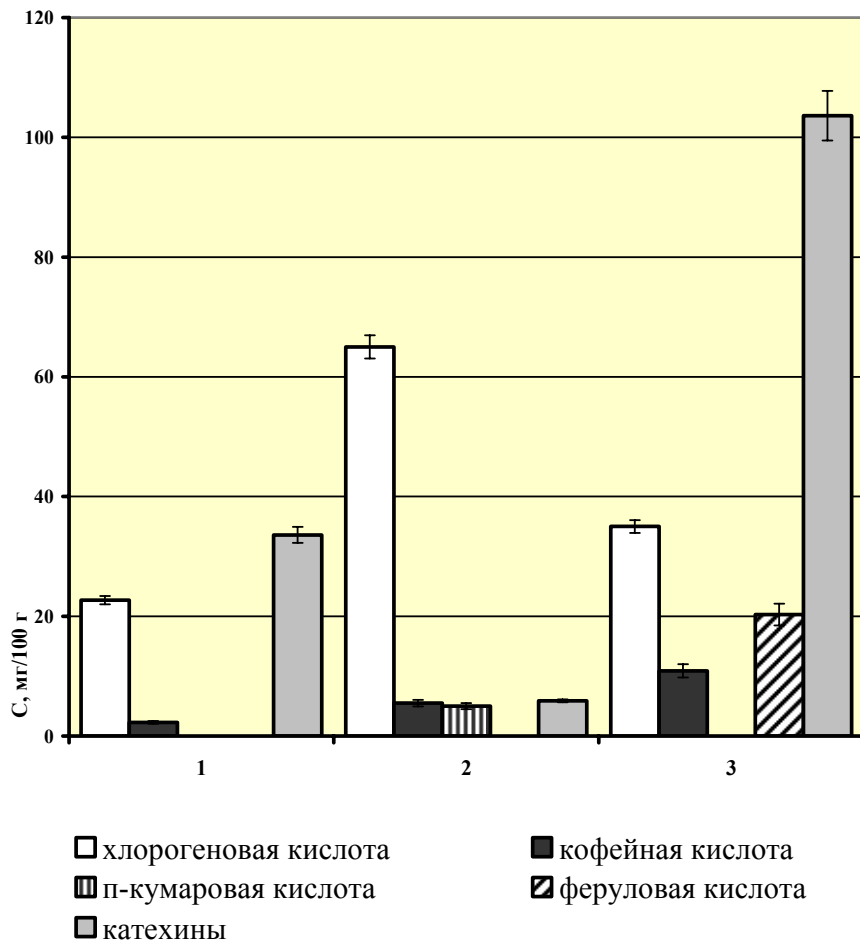
При температуре холодильного хранения $(3\pm 1)^\circ\text{C}$ динамика накопления фенольных соединений несколько иная. Количество хлорогеновой кислоты в контроле увеличивается, к концу хранения появляется п-кумаровая кислота, в большем количестве – при использовании штамма *Ps. aureofaciens* 35. Достаточно велико содержание феруловой кислоты (особенно в конце хранения) в раневой перидерме картофеля, обработанного *Ps.sp.* штамм 115. Известно, что фенольные компоненты суберина представлены феруловой и п-кумаровой кислотами [Запрометов, 1993], а именно в партии, обработанной бактериальной суспензией *Ps.sp.* 115, содержание суберина наибольшее.



1- контроль; 2 - *Ps. aureofaciens* 35; 3 - *Ps. sp.* 115

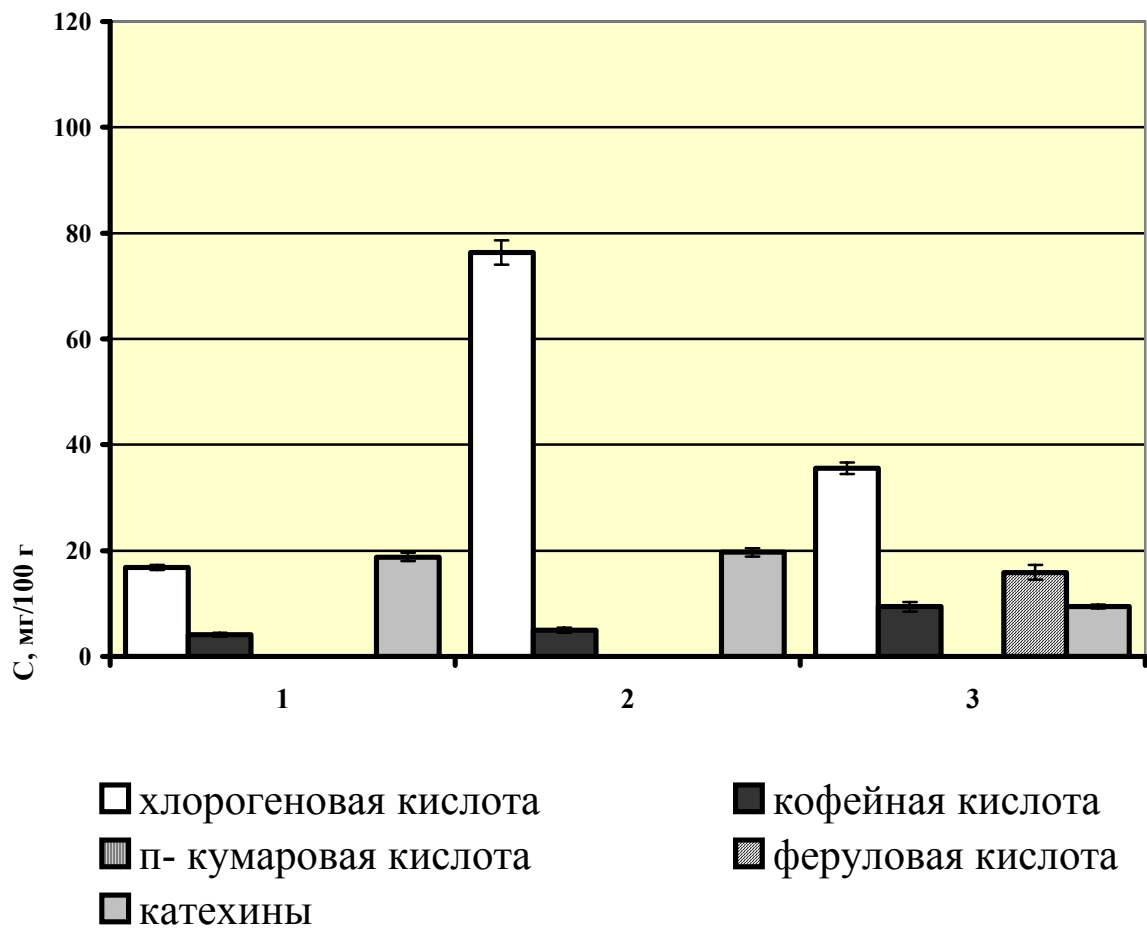
Рисунок 3.3 а) Накопление фенольных соединений в раневой перидерме клубней картофеля сорта Невский в лечебный период при $t = (18 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 7 суток.

Таким образом, при благоприятных условиях лечебного периода обработка картофеля бактериальными препаратами не нарушает естественной динамики накопления фенольных соединений, свойственной необработанным клубням, а также способствует активизации их биосинтеза. Накопление фенольных соединений происходит с различной скоростью в зависимости от штаммов бактерий-антагонистов. Максимальное количество фенольных соединений обнаружено в опытных партиях картофеля, даже при пониженной температуре хранения клубней.



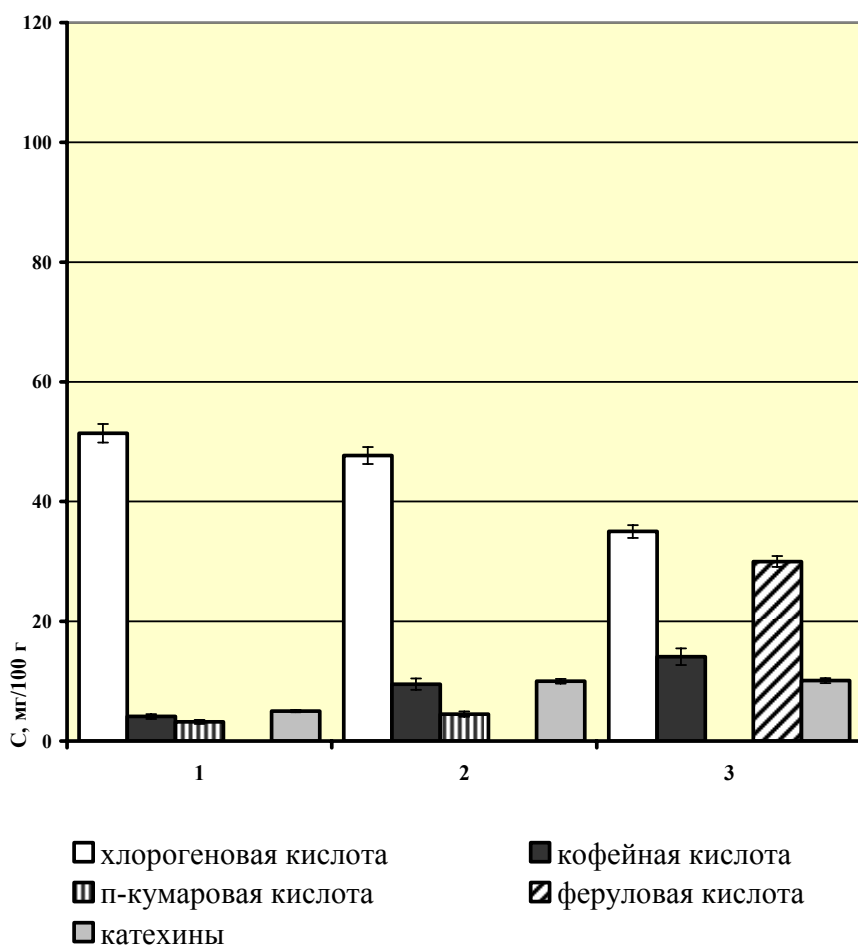
1- контроль; 2 - *Ps. aureofaciens* 35; 3 - *Ps. sp.* 115

Рисунок 3.3 б) Накопление фенольных соединений в раневой перидерме клубней картофеля сорта Невский в лечебный период при $t = (18 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 14 суток.



1- контроль; 2 - *Ps. aureofaciens* 35; 3 - *Ps. sp.* 115

Рисунок 3.4. а) Накопление фенольных соединений в раневой перидерме клубней картофеля сорта Невский при $t = (3 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 14 суток.



1- контроль; 2 - *Ps. aureofaciens* 35; 3 - *Ps. sp.* 115

Рисунок 3.4 б) Накопление фенольных соединений в раневой перидерме клубней картофеля сорта Невский при $t=(3\pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 21 суток.

При длительном холодильном хранении картофеля бактериоантагонисты не оказывают существенного влияния на содержание фенольных соединений. Во всех опытных и контрольных партиях в коре клубней были обнаружены хлорогеновая, кофейная, п-кумаровая кислоты и катехины. Только содержание хлорогеновой кислоты к концу хранения значительно выше во всех опытных партиях. В первый период хранения отмечается накопление фенольных соединений в тканях клубней, во второй период - содержание фенольных соединений максимально и только к концу хранения картофеля их количество начинает снижаться.

Одна из важнейших функций фенольных соединений – участие в окислительно-восстановительных процессах с помощью ферментов-оксидаз, определяющих способность тканей сохраняться и функционировать в условиях изменчивой внешней среды. Защитное действие фенольных соединений, в частности хлорогеновой кислоты, определяется не столько ее

непосредственной токсичностью по отношению к фитопатогенным микроорганизмам, сколько связано с теми превращениями, которые она претерпевает под действием фермента фенолоксидазы растения-хозяина, как правило сильно активизирующегося в ответ на внедрение паразита.

Раневая перидерма клубней является зоной протекания активных биохимических процессов, механическим и химическим барьером на пути патогенных микроорганизмов. Исследование активности ферментов фенолоксидазы, монофенолоксидазы, пероксидазы и каталазы в травматической зоне клубней, обработанных биологическими средствами защиты, представлены на рис.3.5 – 3.8.

При механическом поранении и пониженной температуре активность фенолоксидазы изменяется незначительно в присутствии бактерий-антагонистов, несмотря на увеличение содержания фенольных соединений в раневой перидерме, однако, низкая температура стабилизирует высокую ферментативную активность на протяжении всего периода проведения эксперимента, не зависимо от варианта обработки. Наиболее заметно действие бактерий-антагонистов на увеличение активности фенолоксидазы при повышении температуры, особенно при применении *Ps. aureofaciens* 35. Данный фермент активизируется, достигая максимума на 7 сут, после чего начинает постепенный возврат к исходному уровню.

Монофенолоксидаза повышает свою активность во всех вариантах опыта. Более заметное влияние оказывает обработка картофеля бактериальной суспензией *Ps. aureofaciens* 35, активизируя при температуре $(3 \pm 1)^\circ\text{C}$ данный фермент почти в 2 раза. Индукция активности ферментов фенолоксидазы и монофенолоксидазы в опытных образцах сопровождается активизацией защитных реакций клубней в ответ на неблагоприятные условия проведения эксперимента.

Активность фермента пероксидазы опытных образцов значительно превышает активность пероксидазы в контроле при различных условиях проведения эксперимента, особенно с использованием суспензии *Ps.sp.* штамм 115. В ответ на механическое поранение клубней в первый промежуток времени пероксидаза активизируется и наиболее резко – в присутствии бактерий-антагонистов и продуктов их метаболизма: более чем в 10 раз при $(18 \pm 1)^\circ\text{C}$ и в 2-3 раза – при температуре $(3 \pm 1)^\circ\text{C}$, затем продолжает постепенно повышать свою активность.

Что касается активности каталазы, то величина ее активности в опытных и контрольных вариантах отличается незначительно.

При длительном холодильном хранении картофеля можно отметить три характерных периода изменения активности ферментов-оксидаз, что соответствует трем периодам изменения интенсивности дыхания картофеля.

Первый период характеризуется снижением активности указанных ферментов, вызванным охлаждением клубней и вхождением их в состояние глубокого покоя. Во втором периоде исследуемые параметры находятся на самом низком уровне и существенно не изменяются.

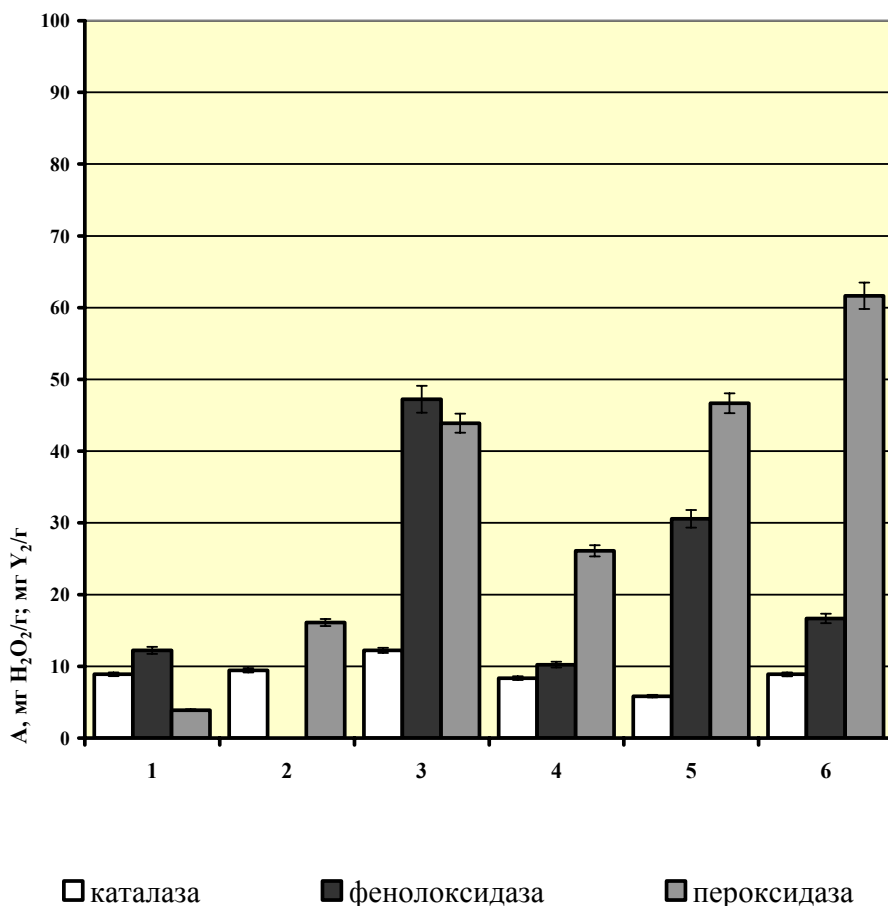


Рисунок 3.5. Активность ферментов в раневой перидерме клубней картофеля сорта Невский в лечебный период при $t = (18 \pm 1)^\circ\text{C}$.

1 - контроль,	7 суток;	2 - контроль,	14 суток;
3 - <i>Ps. aureofaciens</i> 35,	7 суток;	4 - <i>Ps. aureofaciens</i> 35,	14 суток;
5 - <i>Ps. sp.</i> 115,	7 суток;	6 - <i>Ps. sp.</i> 115,	14 суток.

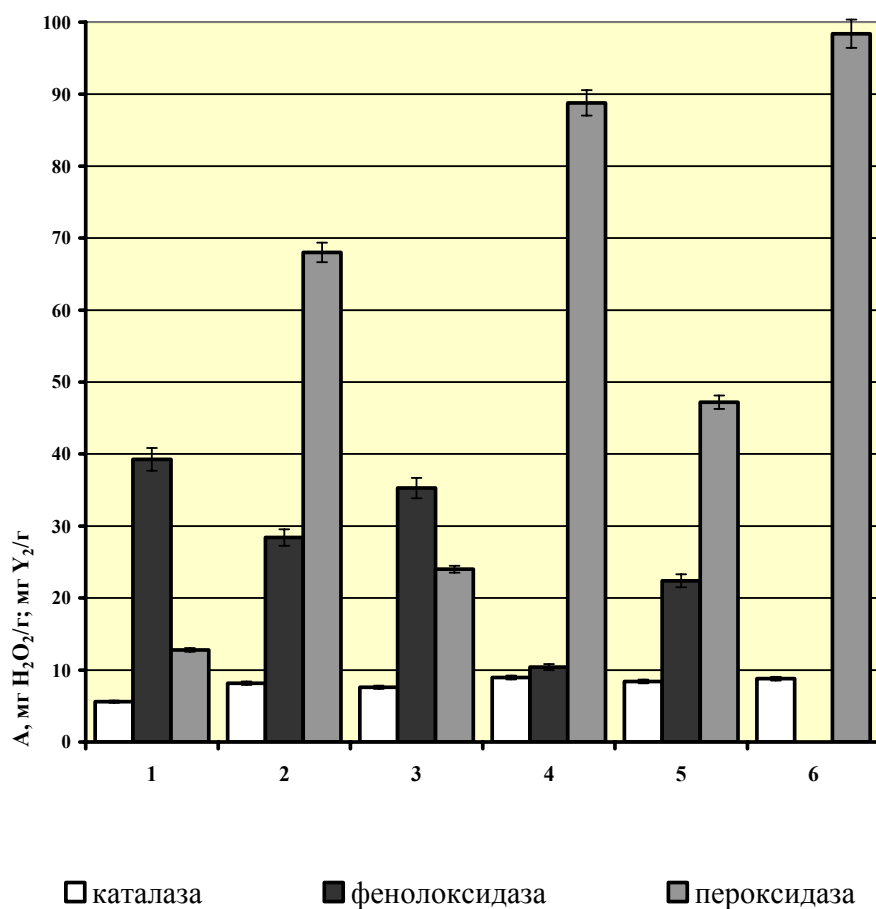


Рисунок 3.6. Активность ферментов в раневой перидерме клубней картофеля сорта Невский при $t = (3 \pm 1)^\circ\text{C}$.

1 - контроль, 14 суток; 2 - контроль, 21 суток;
 3 - *Ps. aureofaciens* 35, 14 суток; 4 - *Ps. aureofaciens* 35, 21 суток;
 5 - *Ps. sp. 115*, 14 суток; 6 - *Ps. sp. 115*, 21 суток.

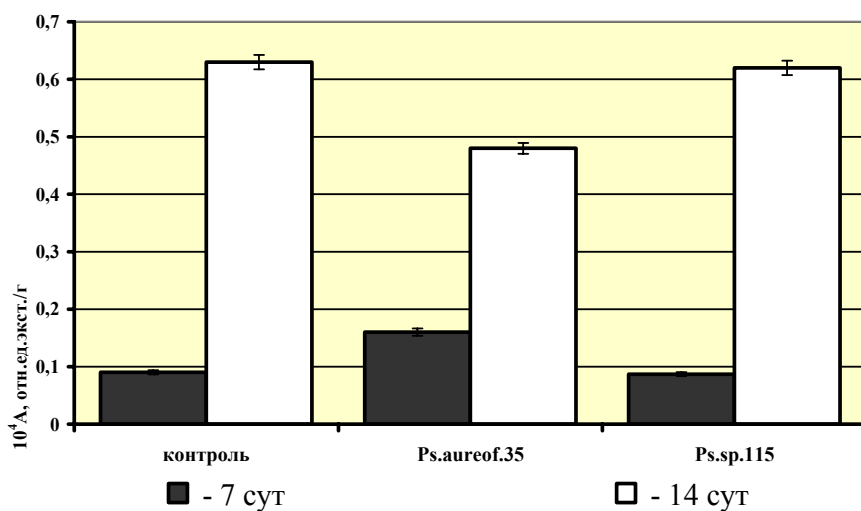


Рисунок 3.7. Активность монофенолоксидазы в раневой перидерме

картофеля сорта Невский в лечебный период при $t = (18 \pm 1)^\circ\text{C}$.

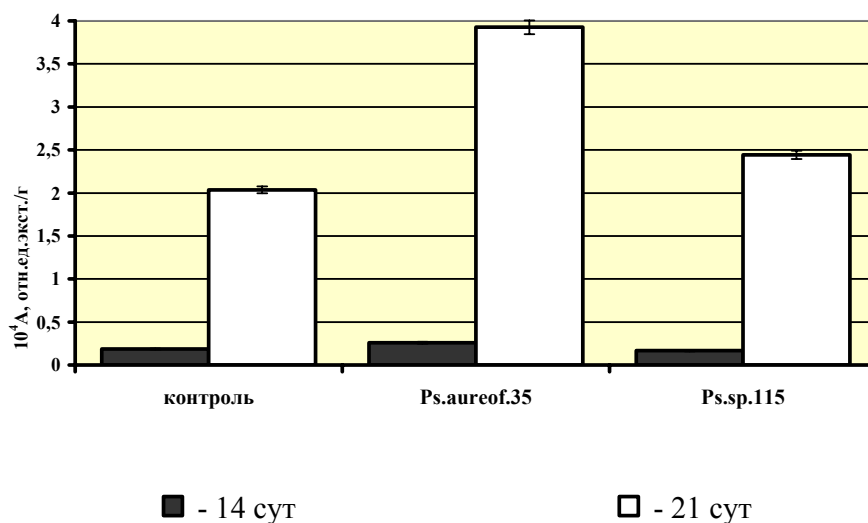


Рисунок 3.8. Активность монофенолоксидазы в раневой перидерме картофеля сорта Невский при $t = (3 \pm 1)^\circ\text{C}$.

По мере выхода клубней из состояния покоя активность каталазы, пероксидазы и фенолоксидазы увеличивается, что характеризует третий период в хранении клубней. Повышение активности ферментов связано с возрастающей потребностью тканей в энергии, необходимой на ростовые процессы.

Во всех трех периодах длительного холодильного хранения картофеля динамика изменения активности ферментов в опыте и контроле идентична, однако, большей активностью ферментов отличаются партии, обработанные биологическими средствами защиты, что может быть причиной активизации защитных механизмов в растительных тканях и следствием снижения инфекционных микробиологических заболеваний картофеля в процессе хранения.

На реакции сверхчувствительности основан иммунитет растений ко многим инфекционным болезням, в связи с этим важное значение имеет влияние бактерий-антагонистов на защитные механизмы, в частности, на конституционные вещества, их качественные и количественные превращения.

Естественно, все защитные механизмы растений действуют согласованно, взаимно дополняя друг друга. Так, в реакции сверхчувствительности участвуют, по крайней мере, два защитных механизма – продуцирование фитоалексинов и ферментное окисление фенолов.

Накопление фенолов, активизирование процессов их ферментативного окисления в ответ на поражение, приводит к выводу, что защитная роль широко распространенной в растениях системы фенолы+фенолоксидаза заключается в том, чтобы ослабить силы вторгшегося патогена и создать прикрытие до того, пока в действие не вступят более сильно действующие антибиотические вещества, в частности фитоалексины.

Замечено [Метлицкий, 1976, Рубин, Арциховская, 1975], что, чем большей способностью к окислению обладало фенольное соединение, тем более фунгитоксичные продукты образовывались в ходе его ферментативного превращения, именно поэтому речь идет не столько о защитной роли фенолов, присутствующих в интактных тканях, сколько о системе фенолы+фенолоксидаза.

С этой целью определяли влияние обработки картофеля сортов Невский и Детскосельский бактериями-антагонистами на защитную систему фенолы+фенолоксидаза (ФС+ФО). Для этого опытные партии картофеля обрабатывали бактериальными суспензиями и суспензией гриба *Phytophthora infestans*, контролем служили неинфицированные клубни и клубни, обработанные только грибной суспензией. В коре неповрежденных клубней картофеля определяли качественный и количественный состав фенольных соединений и активность ферментов-оксидаз. Результаты исследования представлены в табл. 3.2. - 3.5.

Как видно из полученных результатов, во всех вариантах опыта обнаружена хлорогеновая кислота, кофейная кислота и ее производные, флавоноиды. Выявлены различия по содержанию фенолов в клубнях исследуемых сортов. Так, изначально в коре клубней сорта Детскосельский содержание фенолов значительно выше, чем в коре клубней сорта Невский.

В результате инфицирования контрольных клубней суспензией *Ph. infestans* у картофеля сорта Невский общее содержание фенолов увеличивается в 1,5 раза, а растительные клетки картофеля сорта Детскосельский в условиях контакта с фитопатогенным микроорганизмом практически не отреагировали на инфицирование.

Обработка клубней картофеля обоих сортов биологическими средствами защиты индуцирует образование фенольных соединений в ответ на инфекцию во всех вариантах опыта, особенно в сорте Невский.

Кроме того, необходимо учитывать, что продукты ферментативного окисления кофейной кислоты и ее производных обладают наибольшим фунгицидным действием. А именно в опытных партиях, особенно при использовании картофеля сорта Невский, который отличается повышенной устойчивостью к инфекционным заболеваниям, отмечена большая скорость

окисления хлорогеновой кислоты и как результат - активное накопление кофейной кислоты и ее производных, обладающих более сильными фунгицидными и фунгистатическими свойствами.

Биологические защитные агенты не оказывают влияние на активность каталазы в клубнях обоих сортов в присутствии патогена. Активность фенолоксидазы выше, чем в контрольном варианте, однако, она незначительна по сравнению с активностью пероксидазы, которая активнее реагирует на появление фитопатогенного микроорганизма в клубнях картофеля обоих сортов, возможно это связано с тем, что метаболизм ферментов пероксидазы и фенолоксидазы тесно взаимосвязан и пероксидаза может обладать фенолоксидазной активностью [Иванова, Рубин, 1962].

Таким образом, обработка бактериальными препаратами картофеля, помещенного в условия инфекционного очага, способствует повышению содержания фенольных соединений и увеличению активности ферментов фенолоксидазы и пероксидазы в коре клубней, а следовательно и активизации защитной системы фенолы+фенолоксидаза в зависимости от сорта картофеля, способа обработки и штамма бактерий-антагонистов.

Таблица 3.2 Содержание фенольных соединений в коре клубней картофеля сорта Невский в зависимости от обработки, мг/100 г

Вариант	Хлорогеновая кислота	Кофейная кислота	Производные кофейной кислоты	Флавоноиды
Контроль	7,56±0,14	2,96±0,03	10,05±0,17	16,17±0,3
Ph. Inf.	10,77±0,21	11,36±0,17	10,43±0,18	22,34±0,41
Ph.+Ps.35	87,89±1,3	26,37±0,49	8,34±0,15	22,37±0,41
Ph.+Ps.115	7,43±0,13	11,6±0,18	18,89±0,33	-
Ph.+Ps.73	22,62±0,38	9,01±0,16	21,33±0,39	11,78±0,2
Ps.35+Ph.	33,11±0,65	21,18±0,39	24,15±0,44	5,79±0,11
Ps.115+Ph.	49,29±0,97	15,16±0,28	10,87±0,19	8,62±0,15
Ps.73+Ph.	29,92±0,57	10,5±0,17	13,88±0,25	9,97±0,17

Таблица 3.3 Активность ферментов-оксидаз в коре клубней картофеля сорта Невский в зависимости от обработки

Вариант	Фенолоксидаза, мг Y ₂ / г	Пероксидаза, мг Y ₂ / г	Каталаза, мг H ₂ O ₂ / г
Контроль	24,0±0,53	4,86±0,09	3,86±0,08
Ph. inf.	19,0±0,41	5,0±0,1	4,88±0,095
Ph.+Ps.35	27,0±0,56	10,4±0,18	5,36±0,11
Ph.+Ps.115	27,7±0,6	8,6±0,16	3,96±0,07

Ph.+Ps.73	27,0±0,56	3,4±0,06	4,5±0,09
Ps.35+Ph.	22,0±0,4	11,0±0,24	5,22±0,11
Ps.115+Ph.	24,2±0,43	14,6±0,31	4,59±0,1
Ps.73+Ph.	28,4±0,58	10,03±0,23	4,66±0,08

Таблица 3.4 Содержание фенольных соединений в коре клубней картофеля сорта Деткосельский в зависимости от обработки, мг / 100 г

Вариант	Хлорогеновая кислота	Кофейная кислота	Производные кофейной кислоты	Флавоноиды
Контроль	47,11±0,89	33,71±0,56	11,14±0,19	13,28±0,24
Ph. inf.	56,93±1,02	20,34±0,38	14,97±0,25	12,56±0,23
Ph.+Ps.35	46,8±0,87	30,37±0,54	12,88±0,23	2,36±0,03
Ph.+Ps.115	81,18±1,48	29,19±0,43	13,83±0,24	1,82±0,01
Ph.+Ps.73	58,02±1,06	20,63±0,32	8,67±0,15	8,67±0,16
Ps.35+Ph.	96,96±1,86	32,65±0,54	8,95±0,14	5,04±0,09
Ps.115+Ph.	10,89±0,18	5,96±0,09	6,24±0,10	5,15±0,10
Ps.73+Ph.	24,29±0,44	16,78±0,28	18,54±0,34	6,79±0,12

Таблица 3.5 Активность ферментов-оксидаз в коре клубней картофеля сорта Деткосельский в зависимости от обработки

Контроль	Фенолоксидаза, мг Y ₂ / г	Пероксидаза, мг Y ₂ / г	Каталаза, мг H ₂ O ₂ / г
Контроль	25,55±0,55	2,2±0,05	5,39±0,09
Ph. inf.	24,6±0,53	5,4±0,12	5,11±0,11
Ph.+Ps.35	26,0±0,54	10,0±0,2	5,4±0,10
Ph.+Ps.115	28,0±0,54	4,4±0,09	5,26±0,10
Ph.+Ps.73	17,6±0,33	10,0±0,19	5,38±0,12
Ps.35+Ph.	27,6±0,52	6,4±0,13	4,89±0,08
Ps.115+Ph.	31,6±0,66	7,0±0,12	5,01±0,08
Ps.73+Ph.	26,0±0,56	12,6±0,25	4,86±0,09

Таким образом, обработка бактериальными препаратами картофеля, помещенного в условия инфекционного очага, способствует повышению содержания фенольных соединений и увеличению активности ферментов фенолоксидазы и пероксидазы в коре клубней, а следовательно и активизации защитной системы фенолы+фенолоксидаза в зависимости от сорта картофеля, способа обработки и штамма бактерий-антагонистов.

Применение грибной суспензии *Ph.infestans* совместно с обработкой бактериальными препаратами вызывает некоторые затруднения в определении влияния метаболитов бактерий-антагонистов на защитную систему фенолы+фенолоксидаза, т.к. трудно разграничить роль растения-хозяина, патогенного микроорганизма и бактерий-антагонистов в образовании фенольных соединений.

Однако, исследования, проведенные нами на клубнях с механическими повреждениями, указывают на то, что, возможно, именно продукты жизнедеятельности бактерий-антагонистов, в частности *Ps. aureofaciens* штамм 35 и *Ps. sp.* штамм 115, оказывают активизирующее действие на защитную систему фенолы+фенолоксидаза. При сопоставлении результатов исследования содержания фенольных соединений и активности ферментов-оксидаз в раневой перидерме механически поврежденных клубней, обработанных бактериальными суспензиями, и в коре клубней, одновременно обработанных бактериями-антагонистами и суспензией гриба *Ph. infestans*, отмечено, что продукты жизнедеятельности антагонистов не только подавляют развитие и рост патогенов, но и выступают индукторами защитных реакций клубней картофеля.

Изучали иммунный ответ растительных тканей на различные условия биологической обработки клубней: после инфицирования патогеном или биообработка с последующим заражением.

Изменение содержания фенольных соединений в коре клубней при различных условиях биообработки зависит от применяемого биоагента и сортовых особенностей объекта исследования. Например, в клубнях сорта Детскосельский первичное присутствие патогена индуцирует накопление фенольных соединений в варианте со штаммом 115: количество хлорогеновой кислоты в 8 раз больше, чем при первоначальном присутствии антагониста; при использовании штамма псевдомонад №73 – в 2 раза выше.

Однако, следует учесть и тот факт, что одновременно почти с одинаковой скоростью во всех вариантах опытов происходят окислительные процессы хлорогеновой кислоты с образованием более фунгитоксичных соединений. Так, в клубнях сорта Невский в варианте обработки: *Ph.infestans*+*Ps.aureof.35* количество хлорогеновой кислоты почти в 3 раза больше, чем в варианте *Ps.aureof.35* + *Ph. infestans*, однако, в этом случае антагонисты индуцировали накопление в большем количестве продуктов окисления хлорогеновой кислоты: кофейную кислоту, производные кофейной кислоты и флавоноиды, чем и объясняется её (хлорогеновой кислоты) низкое содержание в присутствии бактерий-антагонистов с последующим заражением. Применение бактериальной суспензии на основе *Ps. aureofaciens* штамм 35 вызывает повышенный иммунный ответ клубней

на воздействие патогенного микроорганизма путем активизации защитной системы ФС+ФО.

Пектиновые вещества также играют немаловажную роль в защите растительной продукции от фитопатогенов при хранении.

Растворимый пектин и протопектин локализованы в разных частях растительной клетки и выполняют различные функции. Протопектин входит в состав клеточной оболочки, из него в значительной мере состоят срединные пластинки; растворимый пектин находится в соке вакуоли и межклеточных слоях ткани зрелых плодов.

Протопектин, находящийся в связанном состоянии, образует межклеточную прослойку в растительных тканях и служит как бы цементирующим материалом для клеток, обуславливая твердость и прочность тканей и создавая тем самым барьер от проникновения патогенных микроорганизмов. Кроме того, с превращениями протопектина связана мацерация тканей, возникающая при внедрении фитопатогена, механических повреждениях растительных клеток.

Рядом пектолитических ферментов обладают патогенные микроорганизмы, что во многом обуславливает их способность проникать в ткани растения [Метлицкий, Озерцовская и др., 1985].

В результате исследования из раневой перидермы клубней выделено три фракции пектиновых веществ: водорастворимого пектина, фракции промежуточной растворимости и протопектина. Результаты представлены на рис. 3.9 и 3.10.

Из полученных данных видно, что содержание пектиновых веществ в раневой перидерме клубней находится в зависимости от температуры проведения эксперимента и штамма микроорганизмов. В опытных партиях картофеля содержится меньше пектиновых веществ, чем в контроле, возможно, это связано с наличием у бактерий-антагонистов некоторых ферментов, таких как полигалактуроназа, пектинлиаза, пектинметилэстераза и др., способных расщеплять пектиновые вещества.

К концу проведения модельного опыта при температурах $(18\pm 1)^\circ\text{C}$ и $(3\pm 1)^\circ\text{C}$ при всех видах биообработки клубней пектин в раневой перидерме картофеля полностью отсутствует, понижается количество веществ промежуточной фракции растворимости, наиболее интенсивно в контроле.

При температуре $(3\pm 1)^\circ\text{C}$ более заметное влияние на содержание протопектина и веществ смешанной фракции оказывают бактерии рода *Ps.aureofaciens* штамм 35. Суммарное содержание веществ нерастворимой и смешанной фракций на 21-е сут проведения эксперимента в данном варианте опыта выше в полтора раза, чем в контроле.

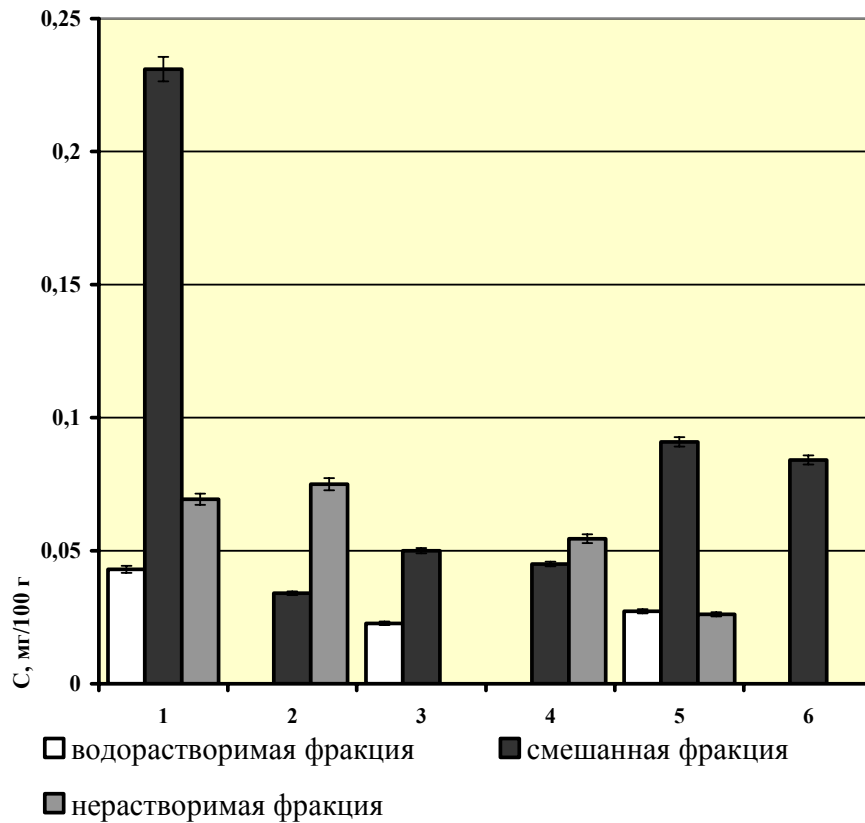


Рисунок 3.9. Содержание пектиновых веществ в раневой перидерме клубней картофеля сорта Невский при $t = (18 \pm 1)^\circ\text{C}$

1 - контроль, 7 суток;
 3 - *Ps. aureof. 35*, 7 суток;
 5 - *Ps. sp. 115*, 7 суток;

2 - контроль, 14 суток;
 4- *Ps. aureof. 35*, 14 суток;
 6 - *Ps. sp. 115*, 14 суток.

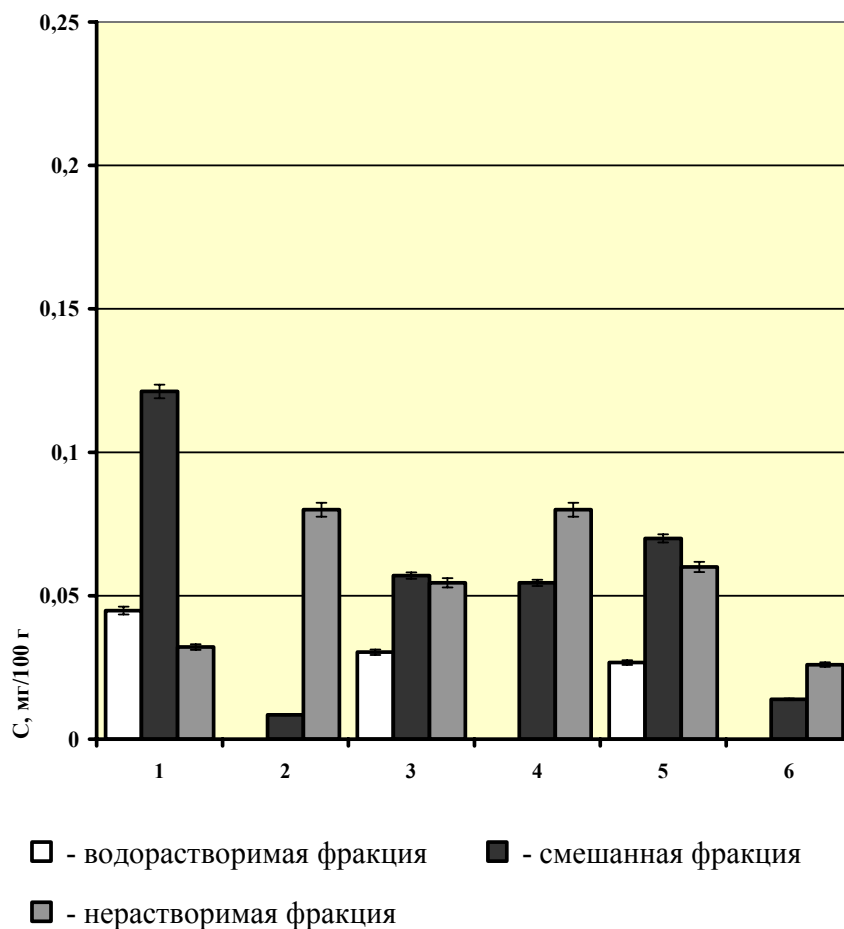


Рисунок 3.10. Содержание пектиновых веществ в раневой перидерме клубней картофеля сорта Невский при $t = (3 \pm 1)^\circ\text{C}$.

- | | |
|-------------------------------|------------------------------|
| 1 - контроль, 14 суток; | 2 - контроль, 21 суток; |
| 3 - Ps. aureof. 35, 14 суток; | 4- Ps. aureof. 35, 21 суток; |
| 5 - Ps. sp 115, 14 суток; | 6 - Ps. sp. 115, 21 суток. |

Результаты исследования по влиянию обработки картофеля суспензиями бактерий-антагонистов на содержание пектиновых веществ в коре неповрежденных клубней в процессе длительного холодильного хранения показали, что бактерии-антагонисты не оказывают существенного влияния на динамику изменения содержания пектиновых веществ в коре здоровых клубней картофеля при длительном хранении.

Процесс дыхания является центральным звеном обмена веществ в любой биологической системе и единственной формой взаимодействия ее с окружающей средой. Интенсивность дыхания можно рассматривать как интегральный показатель, характеризующий жизнедеятельность картофеля в зависимости от условий хранения. Кроме того, уровень интенсивности

дыхания является косвенным показателем лежкости плодов и овощей. При механическом поранении, заражении растительной ткани патогенными микроорганизмами интенсивность дыхания биологических объектов заметно возрастает. Пораженная ткань может выделять в 10 раз больше углекислого газа, чем интактная [Гойман, 1954].

Нашими исследованиями установлено, что у картофеля контрольных и опытных вариантов на протяжении всего периода хранения интенсивность дыхания изменялась сходным образом. При холодильном хранении картофеля отмечается три характерных периода в изменении интенсивности дыхания. Так, в октябре при закладке на хранение клубни отличались повышенным уровнем дыхания, в дальнейшем по мере хранения происходил спад дыхания. Наиболее низкий и довольно стабильный уровень интенсивности дыхания клубней во всех партиях отмечался с ноября по март. К концу хранения интенсивность дыхания увеличивалась во всех вариантах.

Установлено, что интенсивность дыхания клубней зависела от способа хранения. Дыхание клубней при закладке на хранение протекало с различной интенсивностью: наивысшей в варианте с использованием бактериальной суспензии *Ps. sp* 115, наименьшей – при *Ps. fluorescens* штамм 15 (рис.3.11).

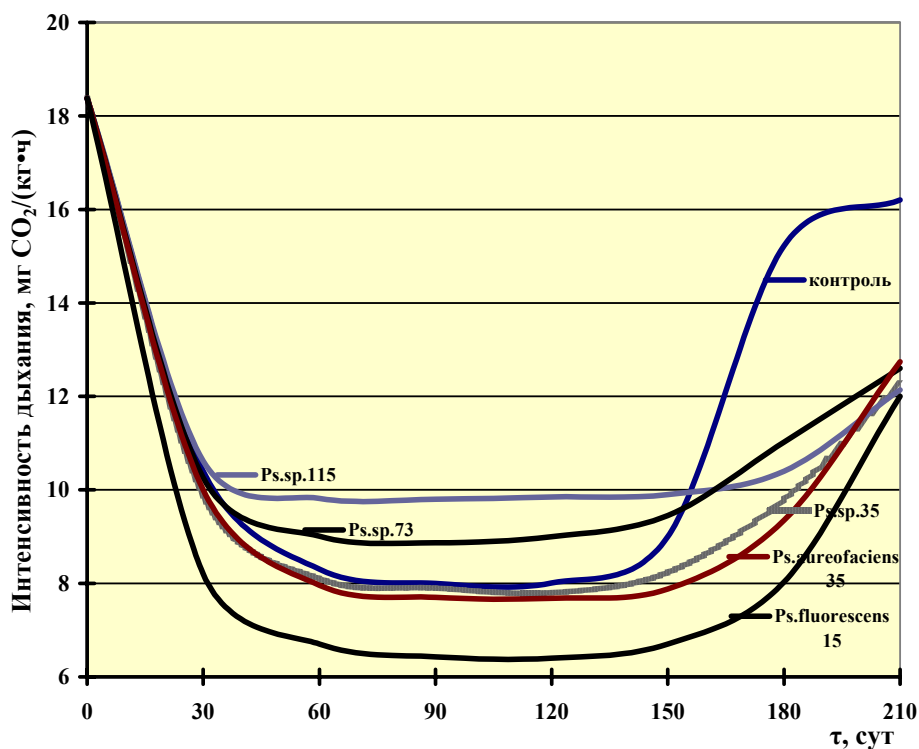


Рисунок 3.11. Изменение интенсивности дыхания клубней при длительном холодильном хранении

В дальнейшем клубни, обработанные биологическими средствами защиты, особенно бактериальными препаратами на основе *Ps. fluorescens* штамм 15, *Ps. aureofaciens* штамм 35, *Ps.sp.* 35 дольше сохраняли нормальный дыхательный газообмен на протяжении всего остального периода хранения..

В последние месяцы хранения интенсивность дыхания клубней увеличивается, что является характерным физиологическим признаком выхода клубней из состояния покоя. Наименьшая величина пика дыхания отмечена во всех опытных вариантах.

Наступление подъема дыхания у клубней без обработки отмечено в марте. У клубней, обработанных биологическими агентами, повышение интенсивности дыхания было сдвинуто на месяц позже по сравнению с контрольными образцами.

Таким образом, обработка картофеля биологическими средствами защиты не вызывает нарушений в цепи биологического окисления и в то же время несколько снижает интенсивность дыхания в весенний период хранения, что позволяет максимально сохранить качество и биологическую ценность клубней.

Витамин С, отличаясь высокой биологической активностью и лабильностью под воздействием внешних факторов, может служить не только одним из критериев оценки биологической ценности, но и показателем оптимизации сроков и технологических условий хранения растительной продукции.

Наибольшее снижение содержания витамина С при хранении картофеля происходит в течение первых месяцев после уборки (рис.3.12). В клубнях, обработанных бактериальными суспензиями *Ps.aureofaciens* 35 и *Ps.sp.*73, аскорбиновая кислота сохраняется лучше по сравнению с контролем, при использовании остальных антагонистов изменение было в пределах ошибки опыта. Так, в контрольных образцах к концу хранения содержание витамина С составило 41.83 %, при обработке *Ps.sp.*115 – 43.44 %, *Ps.sp.*35 – 45.86 %, *Ps.fluorescens* – 47.30 %, *Ps.sp.*73 – 48.27 %, *Ps.aureofaciens* 35 – 54.55 %.

Ранее нами была установлена повышенная интенсивность дыхания в контрольных образцах, которая, возможно, приводит к большему распаду аскорбиновой кислоты в связи с тем, что её содержание в растительных тканях связано с их окислительной активностью.

Было определено так же увеличение содержания в клубнях веществ фенольной природы при применении биологических средств защиты. Флавоноиды являются синергистами витамина С, т.е. действуют с ним в одном направлении и усиливают его биологический эффект за счет

способности флавоноидов снижать окислительно-восстановительный потенциал аскорбиновой кислоты, образуя хелатные соединения с ионами тяжелых металлов, катализирующих окисление аскорбиновой кислоты.

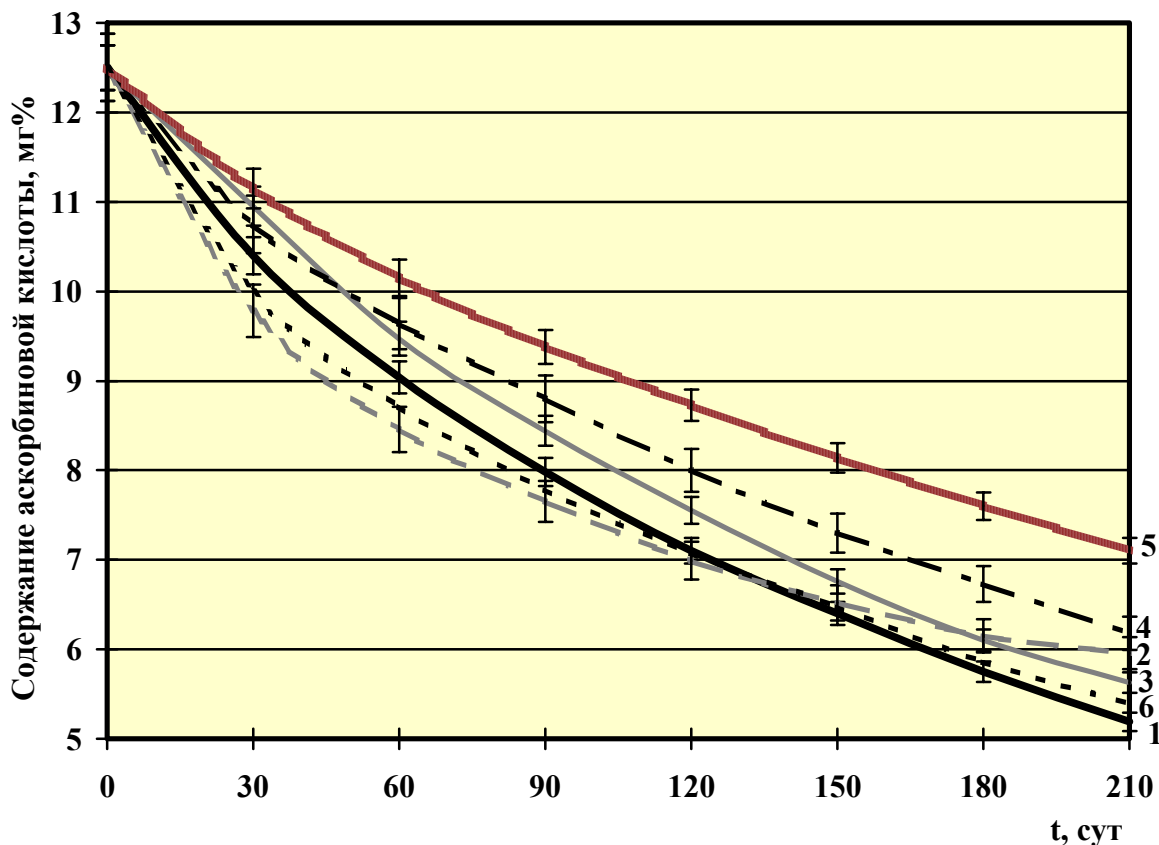


Рисунок 3.12. Изменение содержания аскорбиновой кислоты в клубнях картофеля в процессе хранения после бактериальной обработки

- | | |
|---------------|------------------------|
| 1 – контроль | 4 – Ps.sp.73 |
| 2 – Ps.sp35 | 5 – Ps.aureofaciens 35 |
| 3 – Ps.sp.115 | 6 – Ps. fluorescens 15 |

В процессе хранения отмечено снижение содержания нитратов в клубнях во всех вариантах опыта и в контроле (рис.3.12, 3.13.), связанное с вовлечением их в азотный метаболизм при синтезе органических азотсодержащих соединений. Эти процессы сопровождаются восстановлением нитратов и включением аммиака в состав органического вещества. При выходе растения из состояния покоя и в начале прорастания, нитраты расходуются на построение новых органов, их содержание может снижаться за счет превращения в нитриты.

Большой распад нитратов отмечен в обработанных клубнях. Видимо, в данном случае антагонисты продуцируют вещества, повышающие

активность ферментов нитратредуктазы и (или) нитритредуктазы, способствуют протеолизу запасённых белковых веществ и дезаминированию свободных аминокислот, в результате чего образуется аммиак, который может быть использован наряду с кислородом в качестве альтернативного акцептора электронов. Обработка клубней *Ps.sp.115* не оказала существенного влияния на распад нитратов, только к концу хранения их количество приблизилось к контролю. Значительное снижение уровня нитратов наблюдалось в клубнях, обработанных *Ps.sp.35* и *Ps.aureofaciens 35* (к концу хранения их содержание было ниже, чем в контроле соответственно на 33% и 24%). При меньшем содержании нитратного азота растительная продукция лучше хранится, меньше подвергается инфекционным заболеваниям.

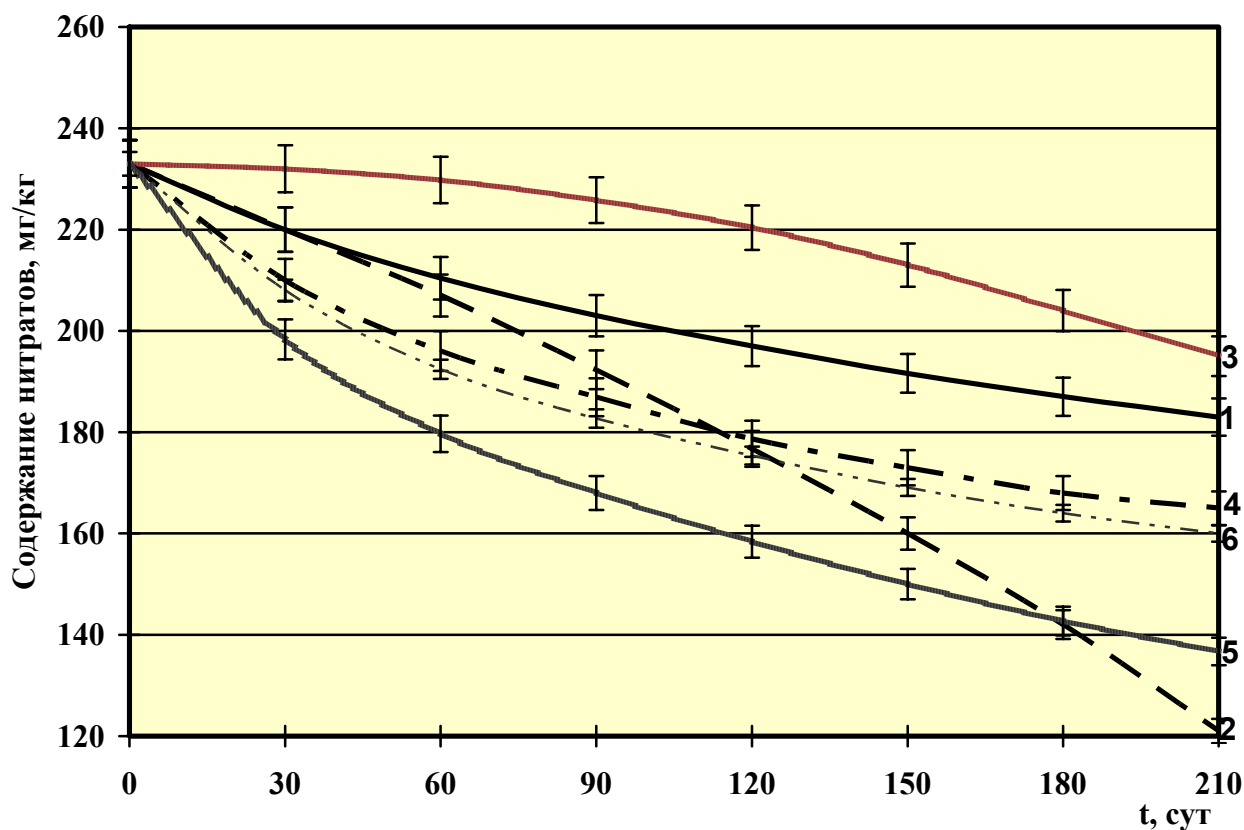


Рисунок 3.13. Изменение содержания нитратов в клубнях картофеля в процессе хранения после бактериальной обработки

- | | |
|----------------------|-------------------------------|
| 1 – контроль | 4 – <i>Ps.sp.73</i> |
| 2 – <i>Ps.sp.35</i> | 5 – <i>Ps.aureofaciens 35</i> |
| 3 – <i>Ps.sp.115</i> | 6 – <i>Ps. fluorescens 15</i> |

3.2. Морковь

С целью выявления влияния бактерий-антагонистов и их метаболитов на защитные механизмы моркови при хранении исследовали в корнеплодах процесс биосинтеза фитоалексинов (колориметрический метод), определяли содержание фенольных (колориметрический метод) и пектиновых веществ (карбазольный метод), изучали изменения активности ферментов: фенолоксидазы, пероксидазы (микрометод Д. Михлина и З.Броневицкой) и каталазы (титриметрический метод).

Качество и сохраняемость моркови при длительном холодильном хранении определяли по изменению интенсивности дыхания корнеплодов (титриметрический метод), содержанию β -каротина (фотометрический метод), по товароведным и фитопатологическим показателям качества [ГОСТ 1721-85].

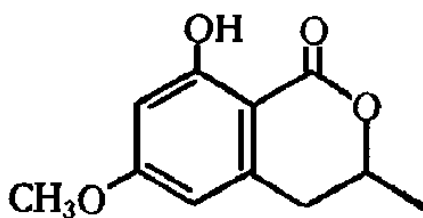
Для обработки корнеплодов моркови перед закладкой на хранение применяли культуральную жидкость (КЖ) бактерий-антагонистов рода *Pseudomonas fluorescens* штамм КО, штамм 7, штамм 4 и *Bacillus subtilis* штамм Ч13, *Bacillus megatherium* с титром бактериальных клеток $0,5 \times 10^8$ (для *Bacillus subtilis* штамм Ч13 использовали также суспензию с титром $0,5 \times 10^9$ кл./мл). Морковь обрабатывали методом опрыскивания (доза 1-3 л/т).

Обработанную морковь и контроль (необработанные корнеплоды) сортов Нандрин, Нантская - 4 и Лосиноостровская-13 хранили в производственных условиях при температуре $(1 \pm 1)^\circ\text{C}$ и относительной влажности воздуха $(90 \pm 5)\%$ в течение 7-9 мес.

Изучению структуры, биосинтеза, распространению и роли фитоалексинов в защите растений от фитопатогенов посвящены работы многих ученых [Бейли, 1982, Медведева и др., 1971, Метлицкий, 1976, Метлицкий, Озерецковская и др., 1985, Нугманова, 1994].

Одно и то же растение в ответ на заражение патогенными и непатогенными микроорганизмами, а также при обработке различными химическими соединениями образуют один и тот же фитоалексин. Следовательно, строение и свойства фитоалексинов определяются только генотипом растения, а природа индуктора определяет лишь скорость и количество образовавшегося фитоалексина.

Фитоалексином, выделенным из корнеплодов моркови, является



6-Метоксимеллеин

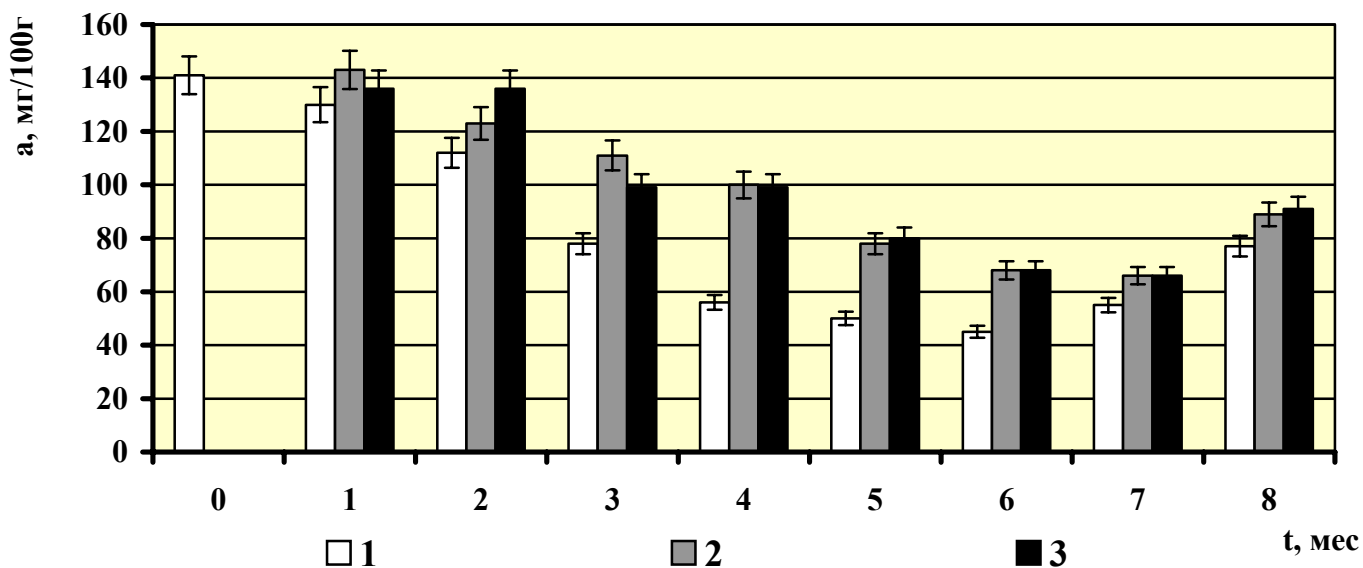
соединение фенольной природы – замещенный изокумарин – 6-метоксимеллеин (рис.2.14) [Казачко и др. 1975].

Рисунок 3.14. Структура фитоалексина

В работах некоторых исследователей [Бейли, 1982, Condon, Кис, 1982] показано, что хранение моркови при пониженной температуре вызывает накопление в ней фитоалексинов. Изменение фитоалексинной активности неинфицированных корнеплодов в зависимости от обработки КЖ антагонистов при холодильном хранении, представлено на рисунке 3.15.

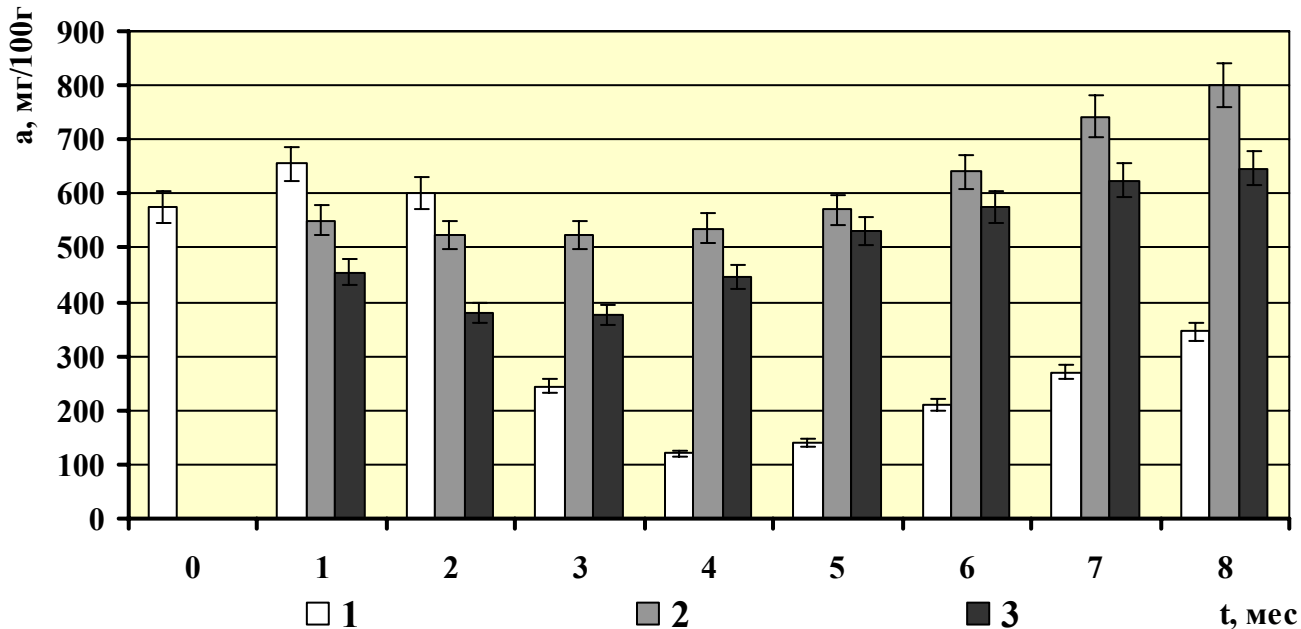
Обнаружено наличие фитоалексинов как в опытных, так и в контрольных партиях моркови. Показано, что обработка корнеплодов КЖ *Bacillus subtilis* незначительно увеличивает содержание 6-метоксимеллеина по сравнению с контролем (на 10-40 мг/100 г, в зависимости от вида обработки).

Хотя, продуцирование фитоалексинов является генетическим признаком, оно в значительной степени зависит от физиологического состояния растительного организма и условий среды. Чем активнее процессы жизнедеятельности в клетке, тем в большей мере она способна образовывать фитоалексины и, соответственно, тем выше ее устойчивость. По мере хранения плодов и овощей их способность продуцировать фитоалексины падает, что согласуется со снижением устойчивости к болезням [Максимова, Лысак и др., 1991].



1 - контроль; 2 – *B.subtilis* 0,5*10⁹ кл /мл; 3 - *B.subtilis* 0,5*10⁸ кл /мл;

Рисунок 3.15. Изменение фитоалексинной активности корнеплодов моркови при холодильном хранении.



1 – контроль; 2 - *B.subtilis* 0,5*10⁹ кл /мл; 3 - *B.subtilis* 0,5*10⁸ кл /мл

Рисунок 3.16. Изменение фитоалексинной активности инфицированной моркови при холодильном хранении

В процессе холодильного хранения основной задачей является защита корнеплодов от фитопатогенных микроорганизмов. На рис. 3.16 представлено изменение фитоалексинной активности в моркови, обработанной КЖ антагонистов в ответ на инфицирование.

Из рисунка 3.16 следует: фитоалексинная активность опытных партий моркови значительно выше, чем в контроле (на 250-450 мг/100 г в зависимости от обработки) на всем протяжении хранения, кроме первых 2-х месяцев. Вероятно, бактерии и их метаболиты включаются в биосинтез 6-метоксимеллеина и интенсифицируют его. Максимальное содержание фитоалексинов наблюдается в партии, обработанной бактериальной суспензией в концентрации $0,5 \cdot 10^9$ кл /мл. К концу хранения происходит увеличение фитоалексинной активности, вызванное, вероятно, выходом корнеплодов из состояния покоя и увеличением инфекционной нагрузки.

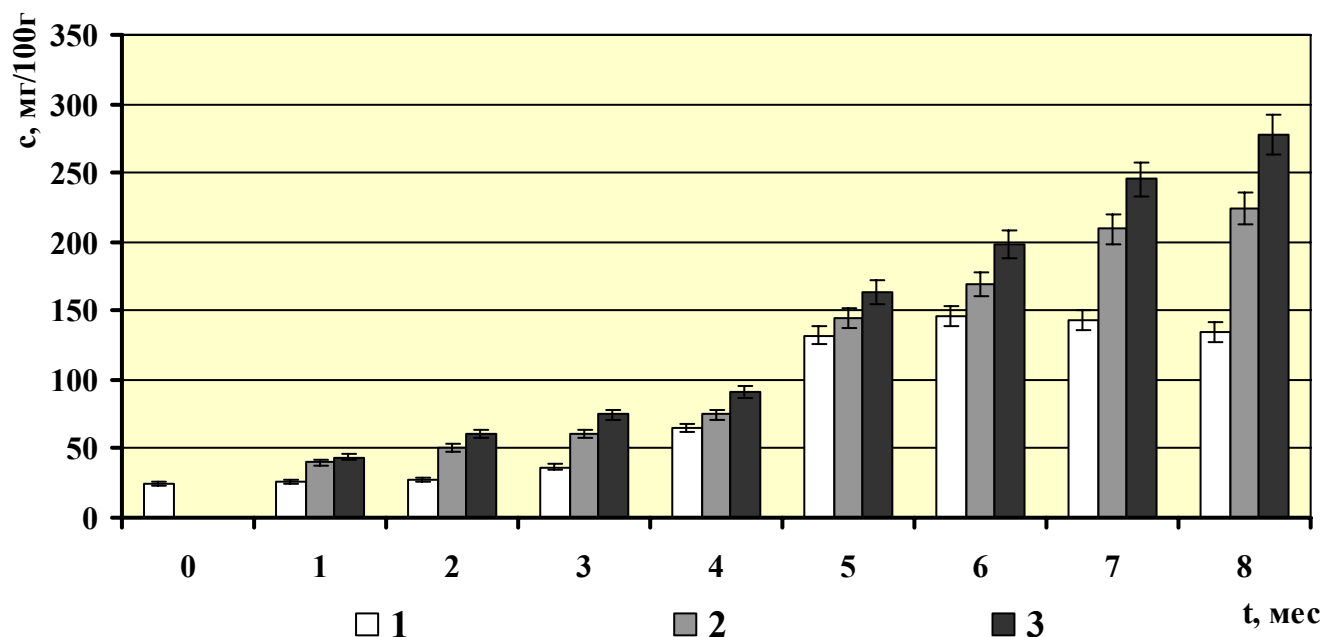
Содержание фитоалексинов в тканях моркови после инфицирования фитопатогенами значительно превышает фитоалексинную активность корнеплодов, индуцированную хранением моркови при пониженных температурах.

Динамика изменения содержания фитоалексинов в неинфицированной и инфицированной моркови при холодильном хранении также различна. Снижение фитоалексинной активности незараженных корнеплодов продолжается до апреля-мая, затем повышается, но остается ниже, чем в начале хранения. При инфицировании снижение количества образующихся фитоалексинов наблюдается только в первые три месяца. В последующие месяцы хранения содержание 6-метоксимеллеина повышается и в образцах, обработанных бактериями-антагонистами, превышает первоначальное и контрольное значения изучаемого показателя.

Таким образом, установлено, что обработка моркови препаратом на основе бацилл ускоряет синтез изокумарина в корнеплодах в ответ на инфекцию. Эффективность обработки повышается с увеличением концентрации бактериальной суспензии.

Известно, что обмен фенольных соединений тесно связан с физиологическим состоянием растительной ткани и ее устойчивостью к фитопатогенным микроорганизмам [Биохимия фенольных соединений, 1968, Запрометов, 1993, Озерецковская, Васюкова, 1965, Рубин, Арциховская, 1975].

Результаты исследования влияния обработки моркови КЖ бактерий-антагонистов на накопление фенольных соединений в корнеплодах при холодильном хранении представлены на рис. 3.17.



1 – контроль; 2 - *B.subtilis* $0,5 \cdot 10^9$ кл /мл; 3 - *B.subtilis* $0,5 \cdot 10^8$ кл /мл

Рисунок 3.17. Изменение содержания фенольных соединений в корнеплодах моркови при холодильном хранении

Полученные данные свидетельствуют об увеличении содержания фенольных соединений в опытных образцах корнеплодов в течение всего периода хранения, и только в контроле, в последние 2-3 месяца хранения наблюдается некоторое снижение их содержания.

Накопление фенольных соединений происходит с различной скоростью в зависимости от концентрации бактериальной суспензии. Максимальное их количество обнаружено в партиях моркови, обработанной КЖ бактерий-антагонистов в концентрации $0,5 \cdot 10^8$ кл /мл.

Таким образом, установлено, что обработка моркови КЖ бактерий-антагонистов несколько изменяет естественную динамику накопления фенольных соединений, свойственную необработанным корнеплодам, способствует активизации их биосинтеза, вероятно, за счет наличия индукторов защитных реакций растений среди метаболитов антагонистов или способности метаболитов ингибировать ферменты, катализирующие превращение фенолкарбоновых кислот.

Разными исследователями было сделано много попыток связать те или иные свойства плодов и овощей, в том числе и устойчивость к болезням, с активностью содержащихся в них ферментов [Бейли, 1982, Запрометов, 1970].

Ферменты-оксидазы определяют способность тканей сохраняться и функционировать в условиях изменчивой внешней среды, поэтому

необходимо исследование влияния биологических средств защиты на их активность при холодильном хранении корнеплодов моркови.

Изменение активности ферментов-оксидаз: фенолоксидазы, пероксидазы и каталазы моркови, обработанной КЖ бактерий-антагонистов, представлено на рис. 3.18, 3.19 и 3.20.

Фенолоксидаза действует на о-дифенолы, полифенолы, дубильные вещества и монофенолы. Как правило, ее активность значительно увеличивается в ответ на внедрение паразита [Запрометов, 1970, Максимова, Лысак и др. 1991].

Фенольные вещества играют не последнюю роль в явлении иммунитета. Защитное действие определяется не столько их непосредственной токсичностью по отношению к фитопатогенным микроорганизмам, сколько теми превращениями, которые они претерпевают под действием фенолоксидазы растения-хозяина. Например, в результате действия этого фермента о-дифенолы превращаются в о-хинон – высоко токсичное вещество.

Активность фенолоксидазы опытных и контрольных вариантов снижается в течение всего периода хранения (рис.3.18). Минимальная активность фенолоксидазы наблюдается в партиях корнеплодов, обработанных КЖ в концентрации $0,5 \cdot 10^8$ кл/мл.

Общая динамика изменения фенолоксидазной активности моркови соответствует изменению содержания фенольных соединений в корнеплодах. В начале хранения, когда активность фенолоксидазы максимальна количество фенольных соединений находится на самом низком уровне, по мере ее снижения содержание фенолов увеличивается и достигает максимума в конце хранения, при минимальной активности фенолоксидазы (коэффициент корреляции равен $-0,875$ для контроля, $-0,685$ и $-0,645$ для образцов, обработанных КЖ в концентрации $0,5 \cdot 10^9$ и $0,5 \cdot 10^8$ кл/мл. соответственно). Таким образом, обработка моркови биологическими средствами защиты вызывает снижение фенолоксидазной активности неинфицированных корнеплодов, способствуя тем самым накоплению фенольных соединений.

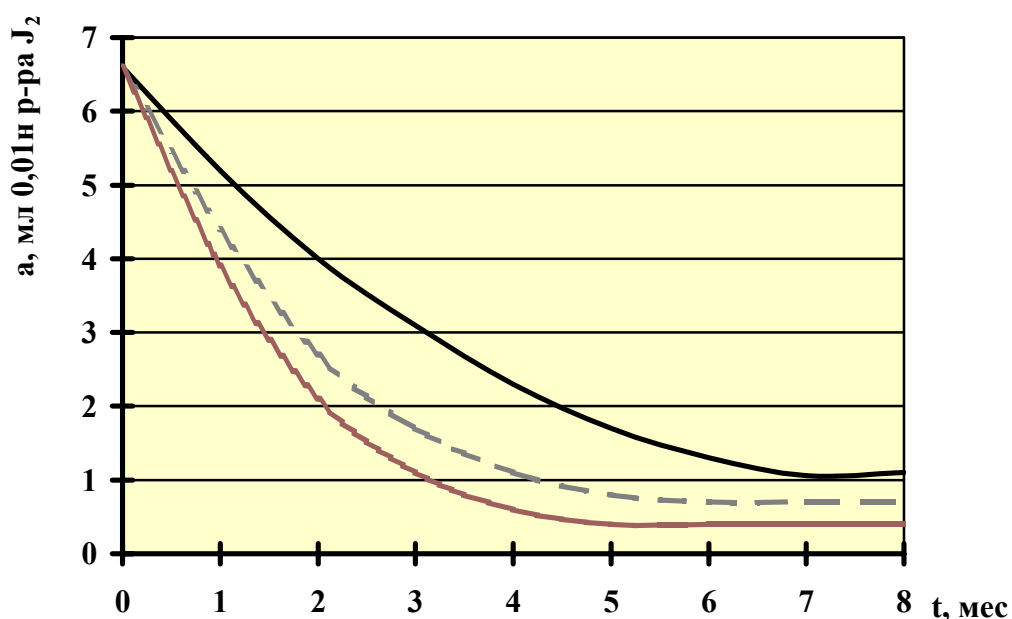
Пероксидаза окисляет фенолы, амины, некоторые гетероциклические соединения, в том числе аскорбиновую кислоту и индол [Андреева, 1988]. В первые два – три месяца хранения происходит увеличение, а затем снижение активности пероксидазы, как опытных, так и контрольных образцов (рис. 3.19). В последний месяц хранения пероксидазная активность корнеплодов равна нулю.

Активность пероксидазы опытных образцов ниже, чем контрольных, видимо, в результате меньшей инфекционной нагрузки (бактерии-

антагонисты синтезируют ряд антимикробных веществ, не позволяющих патогенам проникать в ткани растения) и более глубокого прохождения периода покоя. Активность пероксидазы опытных образцов практически не отличается.

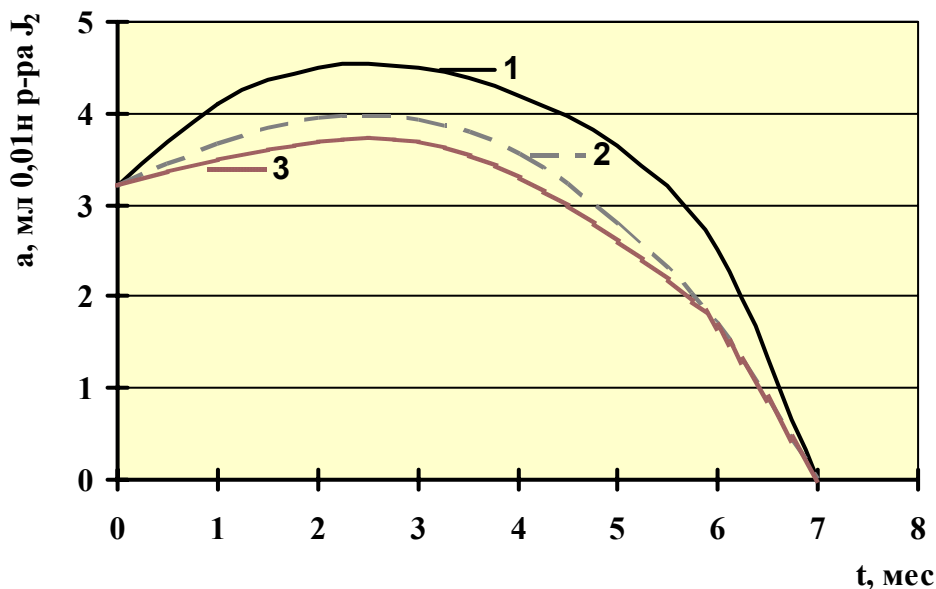
Как следует из полученных данных, в каталитической активности каталазы (рис. 3.20) при холодильном хранении моркови можно отметить три периода, соответствующие трем периодам изменения интенсивности дыхания корнеплодов.

Первый период характеризуется снижением активности фермента во всех исследуемых вариантах, вызванным охлаждением корнеплодов. Во



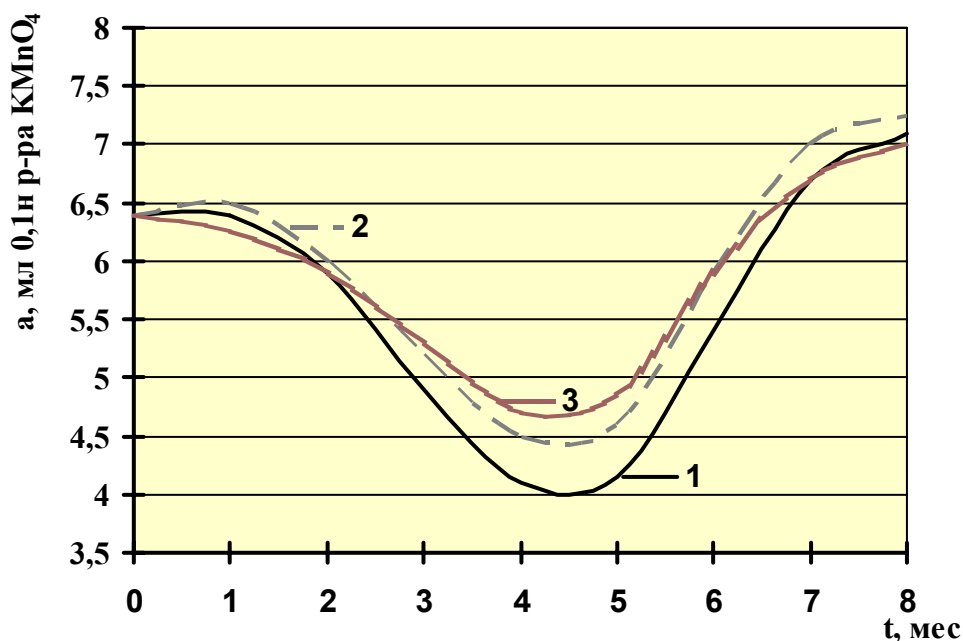
1 – контроль; 2 - *B.subtilis* $0,5 \cdot 10^9$ кл /мл; 3 - *B.subtilis* $0,5 \cdot 10^8$ кл /мл

Рисунок 3.18. Изменение активности фенолоксидазы в корнеплодах моркови



1 – контроль; 2 - *B.subtilis* $0,5 \cdot 10^9$ кл /мл; 3 - *B.subtilis* $0,5 \cdot 10^8$ кл /мл

Рисунок 3.19. Изменение активности пероксидазы в корнеплодах моркови



1 – контроль; 2 - *B.subtilis* $0,5 \cdot 10^9$ кл /мл; 3 - *B.subtilis* $0,5 \cdot 10^8$ кл /мл

Рисунок 3.20. Изменение активности каталазы в корнеплодах моркови

втором периоде исследуемый параметр находится на самом низком уровне. По мере выхода моркови из состояния покоя активность каталазы увеличивается, что характеризует третий период хранения. Повышение

активности фермента связано с возросшей потребностью тканей в энергии, необходимой на ростовые процессы.

Активность каталазы опытных образцов несколько выше, чем контрольных. Значительной разницы между обработанными КЖ партиями обнаружено не было.

Ферменты-оксидазы: Fe-протеиды – каталаза и пероксидаза и Cu-протеид – фенолоксидаза играют важную роль в прохождении альтернативных путей окисления, которые обуславливают способность тканей сохраняться и нормально функционировать при действии различных неблагоприятных факторов.

Экспериментальные данные свидетельствуют, что обработка моркови суспензией бактерий-антагонистов не нарушает естественной динамики изменения активности ферментов-оксидаз, свойственной необработанным корнеплодам. Наблюдается репрессия синтеза фенолоксидазы и пероксидазы опытных образцов, обеспечивающая более глубокое состояние покоя корнеплодов, а, следовательно, снижение интенсивности дыхания и расхода основных питательных веществ.

Пектиновые вещества также играют важную роль в защите растительной продукции от фитопатогенов, обеспечивая прочность покровных тканей.

Корнеплоды моркови отличаются высоким содержанием пектиновых веществ (6 – 8 % на сухой вес, 0,37 – 2,60 на сырой) [Сапожникова, 1971].

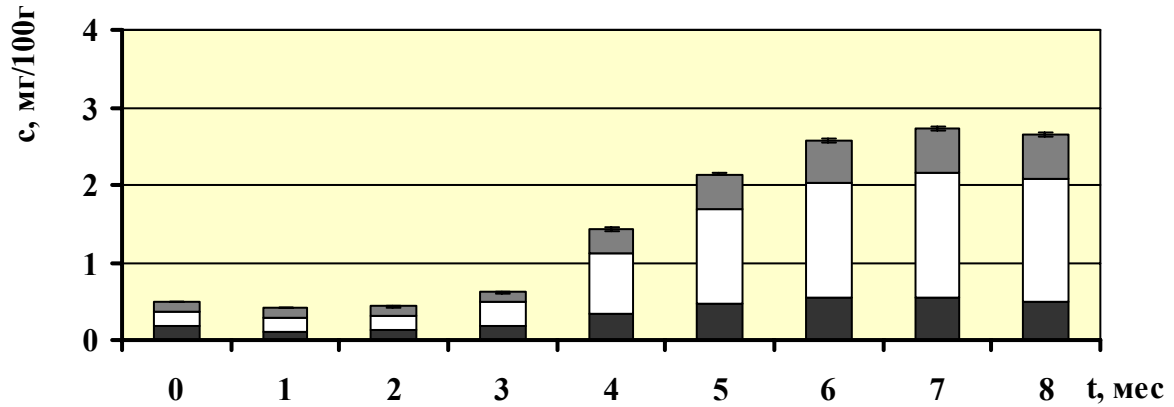
В результате исследования изменения пектиновых веществ корнеплодов в процессе длительного хранения моркови при воздействии биологических средств защиты выделено три фракции пектиновых веществ корнеплодов: водорастворимого пектина, фракции промежуточной растворимости и протопектина. Результаты представлены на рис.3.21.

Из полученных результатов следует, что в партиях моркови, обработанных бактериальными суспензиями, общее содержание пектиновых веществ выше, чем в контроле. К концу хранения происходит накопление пектиновых веществ как в опыте, так и в контроле, возможно, за счет окисления моносахаридов и (или) в результате распада сложных соединений, содержащих пектин, при активации гидролитических ферментов, например протопектиназы [Медведева и др., 1971].

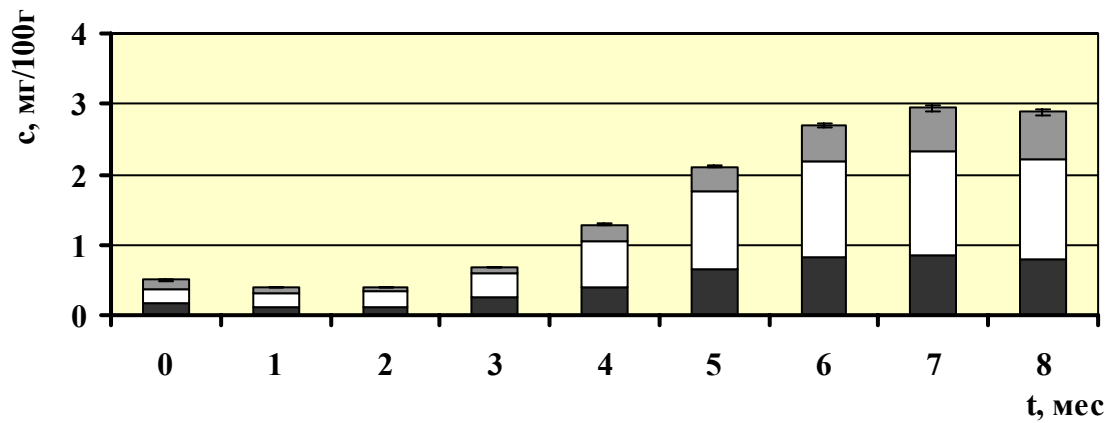
Таким образом, обработка моркови КЖ бактерий-антагонистов оказывает влияние на содержание пектиновых веществ в корнеплодах при холодильном хранении моркови, способствуя их накоплению, особенно при использовании концентрации бактериальной суспензии $0,5 \cdot 10^8$ кл/мл.

Интенсивность дыхания – один из самых точных показателей жизнедеятельности растительного организма.

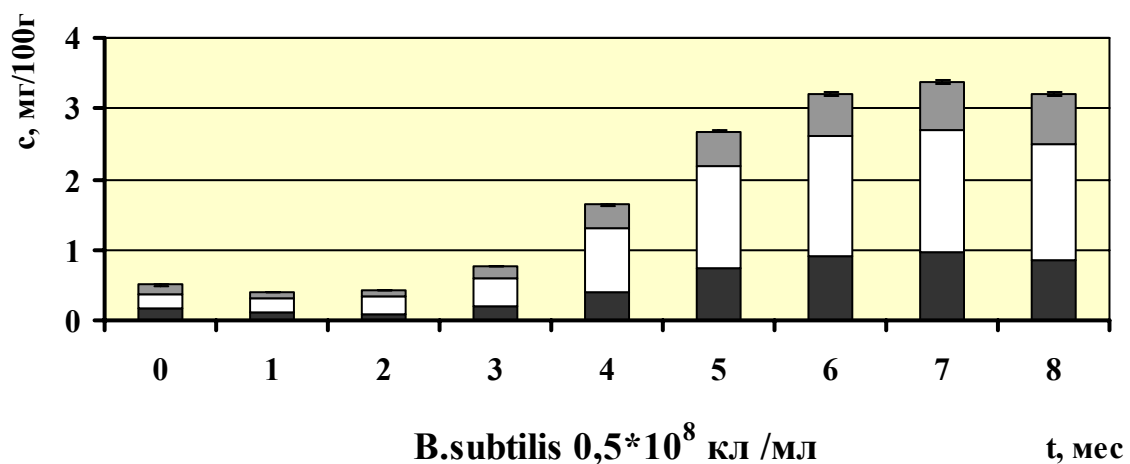
Определена интенсивность дыхания моркови в зависимости от обработки корнеплодов бактериями-антагонистами на протяжении всего периода опытного хранения. Результаты исследований приведены на рис. 3.22.



контроль



B. subtilis 0,5*10⁹ кл /мл

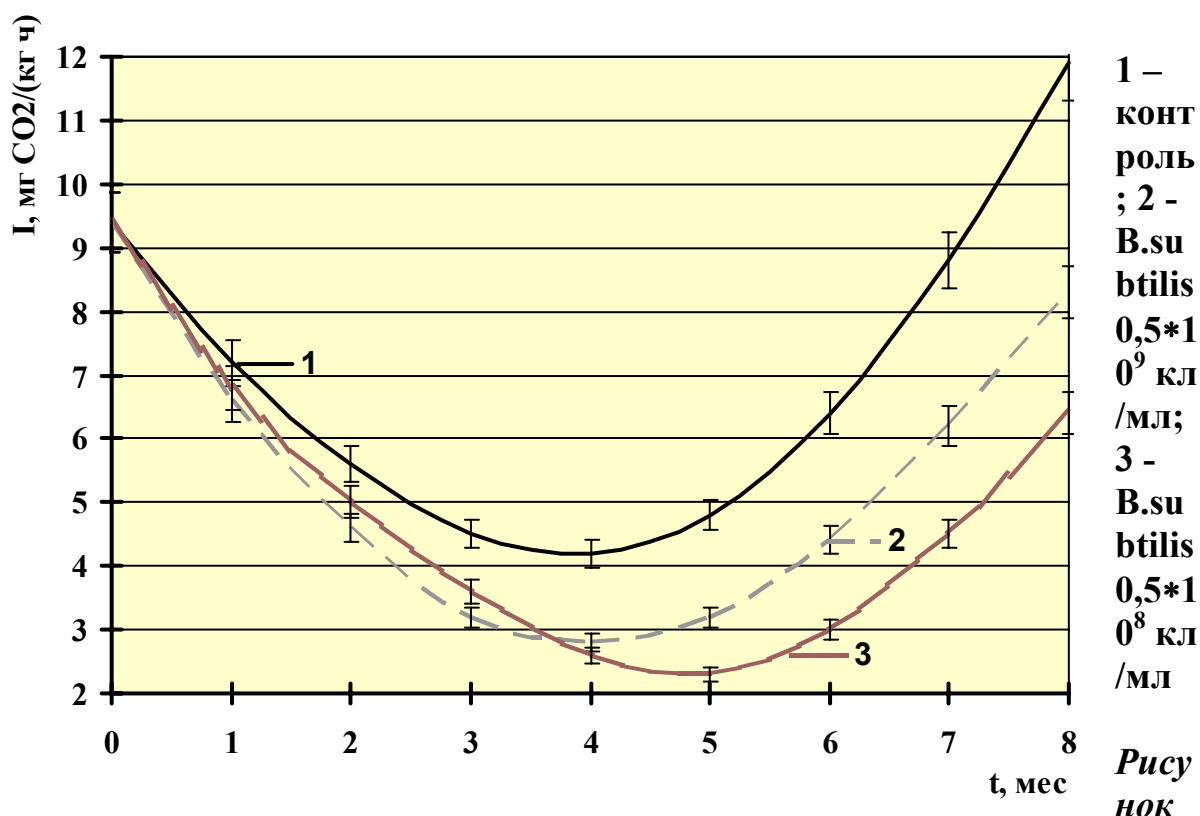


B. subtilis 0,5*10⁸ кл /мл

■ - пектин □ - смешанная фракция ▒ - протопектин

Рисунок 3.21. Изменение содержания пектиновых веществ в корнеплодах моркови при холодильном хранении

При холодильном хранении корнеплодов отмечается три периода в изменении интенсивности дыхания. Так, в конце сентября, при закладке на хранение корнеплоды отличались повышенным уровнем дыхания, в дальнейшем их интенсивность дыхания снижается, что является характерным физиологическим признаком периода покоя.



Рисунок

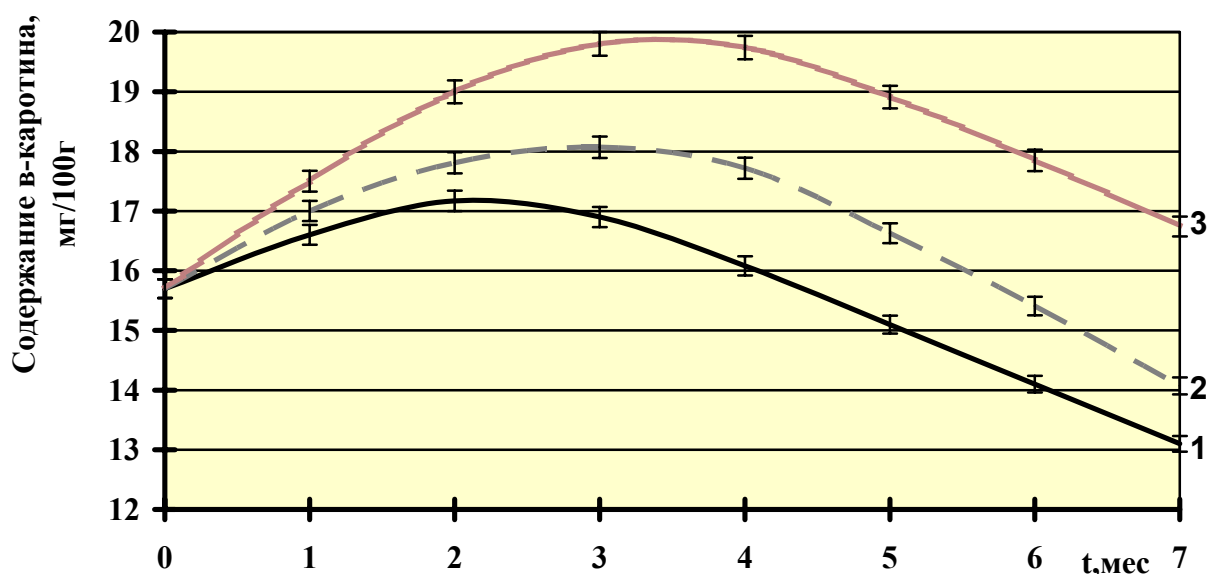
3.22. Изменение интенсивности дыхания корнеплодов моркови при холодильном хранении.

К концу хранения интенсивность дыхания начинает возрастать во всех вариантах, наиболее активно - в контроле.

Согласно полученным данным интенсивность дыхания опытных и контрольных партий практически одинакова в первый период хранения, однако, к концу хранения в присутствии биологических агентов она ниже, чем в контроле, особенно в партиях, обработанных бактериальной суспензией в концентрации $0,5 \cdot 10^8$ кл/мл. В результате - в опытных вариантах корнеплодов дольше сохраняется нормальный дыхательный газообмен, снижается расходование запасных веществ на процессы дыхания.

Важным показателем биологической ценности моркови является содержание β -каротина. После сбора урожая в корнеплодах моркови происходит увеличение концентрации каротина за счет веществ-предшественников, накопившихся в период роста [Бриттон, 1986]. Процесс каротиногенеза продолжается 30 дней и больше. Длина этого периода определяется степенью зрелости корнеплода ко времени уборки. При дальнейшем хранении содержание каротина уменьшается.

Аналогичную картину можно наблюдать на графике (рис.3.23). Однако процесс каротиногенеза образцов, обработанных биопрепаратом, увеличивается до 3-4 месяцев, а содержание в них каротина на завершающем этапе хранения выше, чем в контроле. Наиболее эффективной оказалась обработка моркови бактериальной суспензией с титром клеток $0.5 \cdot 10^8$ кл/мл, использование которой способствует более быстрому накоплению и лучшей сохраняемости β -каротина в тканях корнеплодов моркови по сравнению с контрольным вариантом.



1 – контроль; 2 - *B.subtilis* $0,5 \cdot 10^9$ кл /мл; 3 - *B.subtilis* $0,5 \cdot 10^8$ кл /мл

Рисунок 3.23. Изменение содержания β -каротина в корнеплодах моркови при холодильном хранении.

3.3. Томаты

Влияние бактерий-антагонистов на защитные механизмы и качество плодов томатов при дозаривании и хранении оценивали по изменению содержания пектиновых веществ (карбазольный метод), активности окислительно-восстановительных ферментов: фенолоксидазы (микрометод Д.Михлина и З.Броневицкой), пероксидазы (фотоколориметрический

метод), каталазы (титриметрический метод), тирозиназы (броматометрический метод), по способности плодов образовывать фитоалексины в ответ на инфекцию (фотоколориметрический метод). Изучали интенсивность дыхания, содержание органических кислот (титриметрический метод), аскорбиновой кислоты [ГОСТ 24556-89] томатов.

Плоды томатов сортов Кунэра молочной стадии зрелости обрабатывали методом опрыскивания культуральной жидкостью (КЖ) с концентрацией 10^6 кл/мл бактерий-антагонистов *Ps. fluorescens* шт. 228, *B. subtilis* шт. Ч13. Расход КЖ составил 1 л на 1 т томатов. Контролем служили плоды, обработанные водой. Зеленые и розовые томаты (первые 10 сут) хранили при температуре $(18 \pm 2)^\circ\text{C}$, зрелые (после 10 сут) - при температуре $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$.

Из числа всех имеющихся в настоящее время биохимических показателей именно способность растений образовывать в ответ на инфицирование фитоалексины в ряде случаев наиболее удовлетворительно отражает свойство устойчивости.

Фитоалексином, выделенным из плодов томатов, является сесквитерпеноидный спирт - ришитин. В соответствии с современной теорией фитоиммунитета образование ришитина происходит в результате активации липоксигеназной сигнальной системы [Гречкин, Тарчевский, 1999]. В отечественной и зарубежной литературе обсуждаются и другие функционирующие в клетках растений сигнальные системы: циклоаденилатная, MAP-киназная, фосфатидокислотная, кальциевая, липоксигеназная, супероксидсинтазная, NO-синтазная [Тарчевский, 2000].

Продуцирование фитоалексинов в значительной степени зависит от физиологического состояния растительного организма и условий внешней среды. Чем активнее процессы жизнедеятельности в клетке, тем в большей мере она способна образовывать фитоалексины и соответственно тем выше её устойчивость.

Нашими исследованиями показано, что обработка томатов биологическими агентами сохраняет синтез ришитина в процессе дозаривания на более высоком уровне (рис.3.24, 3.25). По окончании дозаривания содержание ришитина в опытном варианте с применением *B. subtilis* шт. Ч13 на 28 % больше по сравнению с контролем, при использовании бактериальной суспензии *Ps. fluorescens* шт. 228 – на 45 %. Возможно, бактерии-антагонисты и (или) продукты их метаболизма воздействуют на липоксигеназную сигнальную систему, активизируя синтез фитоалексинов.

По мере хранения зрелых плодов их способность продуцировать фитоалексины падает, что согласуется со снижением устойчивости плодов к

болезням. Это скорее всего связано с изменением физиологического состояния томатов в постклимактерический период, изменением активности ферментов. К концу хранения содержание ришитина в томатах, обработанных *Ps. fluorescens* шт. 228, в 2 раза больше, чем в контроле.

Процессы биологического окисления занимают центральное место в обмене веществ клетки, оказывая существенное влияние и на её регуляторные механизмы. Патофизиологи рассматривают окислительно-восстановительные процессы в качестве механизмов, определяющих биохимическую адаптацию растительного организма на инфекцию [Мишина, Талиева, 1996].

В процессе созревания томатов происходит активизация различных ферментов.

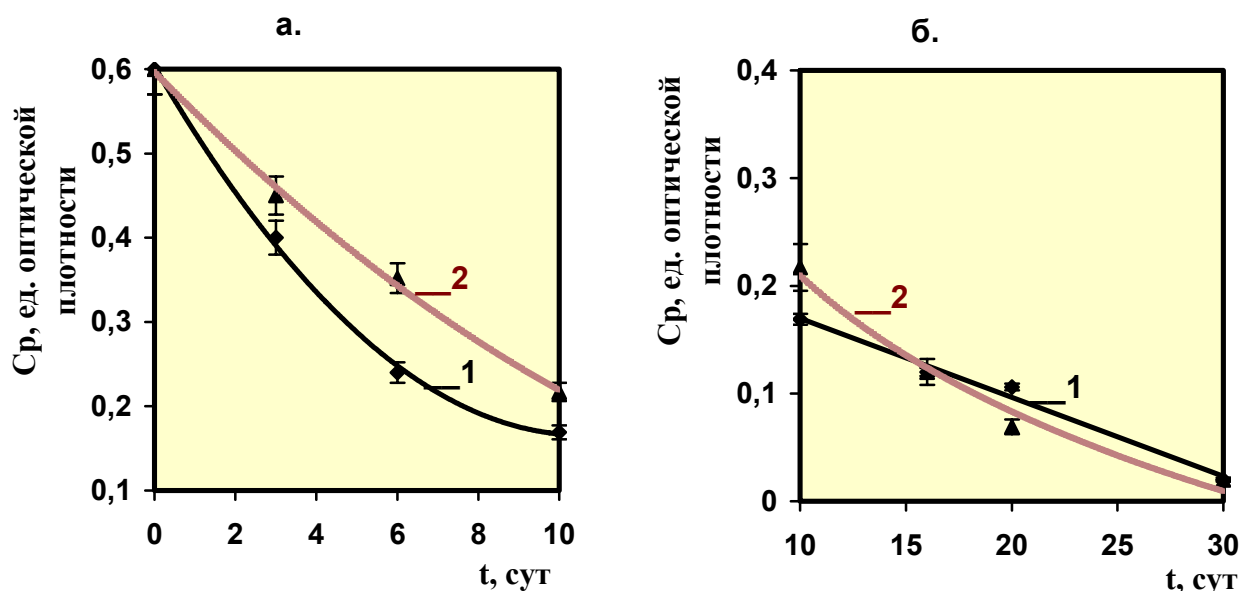


Рисунок 3.24. Содержание ришитина (Ср) в томатах сорта Кунэра при дозаривании (а) и хранении (б): 1- контроль; 2- *B. subtilis* Ч13 (2003 г).

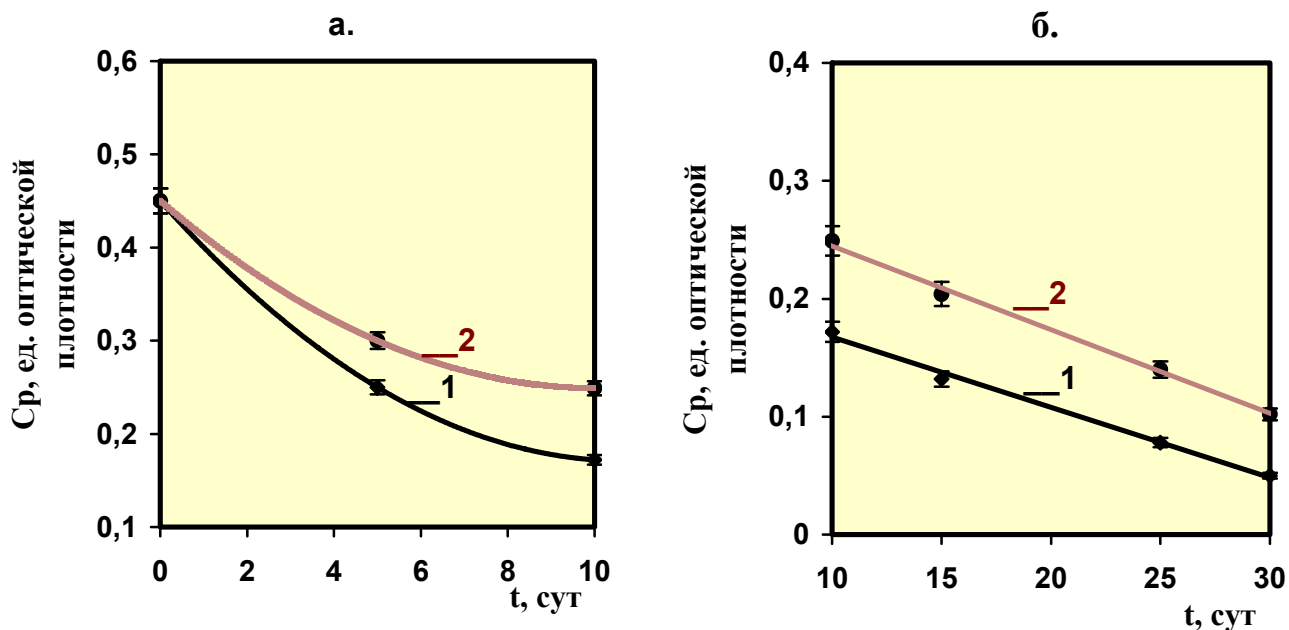
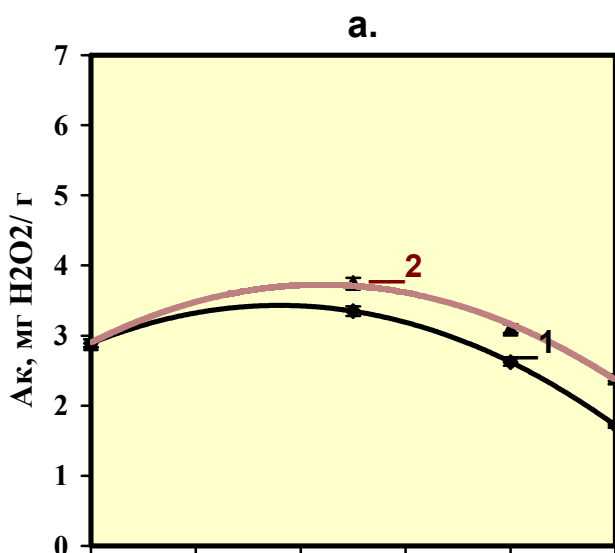


Рисунок 3.25. Содержание риштина (Ср) в томатах сорта Кунэра при дозаривании (а) и хранении (б): 1- контроль; 2- *Ps. fluorescens* шт. 228 (2004 г).

На рисунках 3.26 и 3.27 показаны изменения активности каталазы плодов томата сорта Кунэра в процессах дозаривания и хранения. Из полученных данных следует, что на протяжении всего периода дозаривания и периода хранения томатов, обработанных бактериями-антагонистами рода *B. subtilis* Ч13, каталазная активность опытного варианта превышала активность контрольного.

Проследившая за динамикой активности каталазы томатов при применении биологических агентов рода *Ps. fluorescens* шт. 228, можно отметить, что при созревании характер изменения её активности был подобен контрольному варианту. Однако, в процессе хранения томатов каталазная активность в опытных плодах закономерно увеличивалась и к концу хранения превышала контрольный уровень в 1,6 раза.



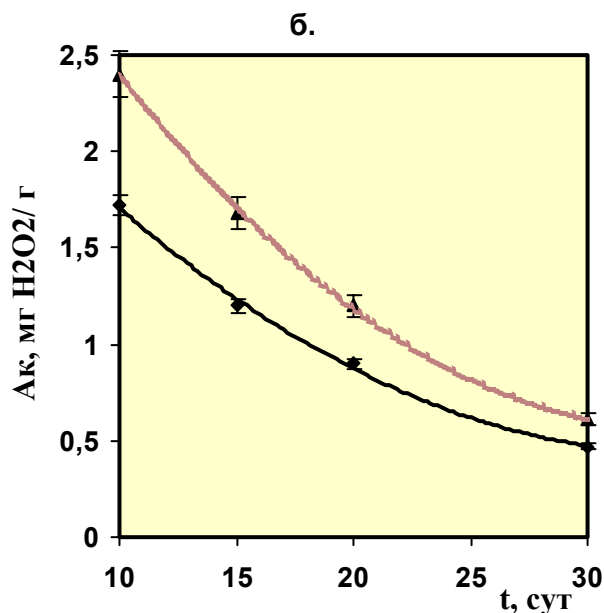


Рисунок 3.26. Активность каталазы (Ак) в томатах сорта Кунэра при дозаривании (а) и хранении (б): 1- контроль; 2- *B. subtilis* Ч13 (2003 г).

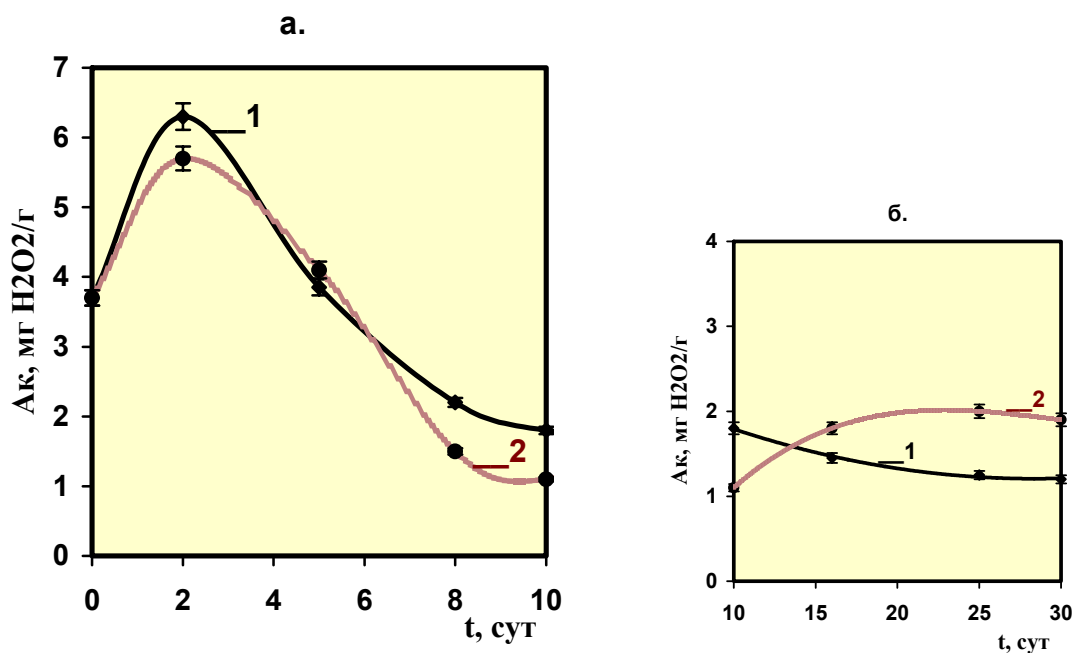


Рисунок 3.27. Активность каталазы (Ак) в томатах сорта Кунэра при дозаривании (а) и хранении (б): 1- контроль; 2- *Ps. fluorescens* шт. 228 (2004 г).

Пероксидаза, по мнению исследователей, является индикатором иммунитета растительных объектов [Андреева, 1988, Чалова, Ногайдели и др., 1985]. Она участвует в процессах обмена веществ, регуляции процессов созревания и защитных реакциях растительных тканей.

Применение биологических средств защиты позволило повысить пероксидазную активность у томатов в процессе дозаривания и хранения.

Так, активность пероксидазы в опыте возрасла в 3.5 раза, достигнув максимального значения на 16 сут проведения эксперимента, а в контроле – в 2.4 раза при максимуме, приходящемся на 8 сут. Обработка томатов бактериальной суспензией *Ps. fluorescens* шт. 228 не оказывает ингибирующего действия на пероксидазу, наоборот, в присутствии бактерий-антагонистов и продуктов их жизнедеятельности сильнее проявляется реакционная способность фермента.

Перераспределение активности фермента в тканях плодов является особенностью их каталитического аппарата проявлять свою изменчивость под воздействием условий среды. Увеличение пероксидазной активности растительных тканей, вероятно, связано с наличием источников активного кислорода.

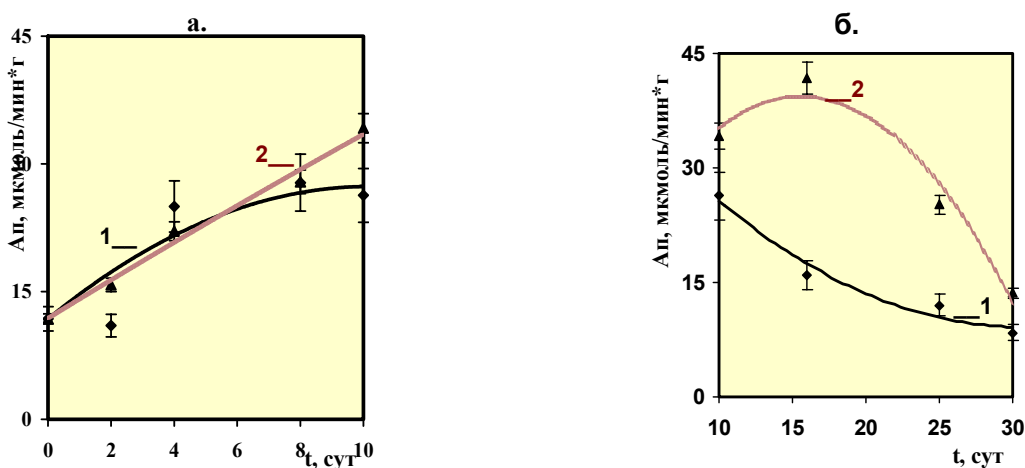


Рисунок 3.28. Активность пероксидазы (Ап) томатов сорта Кунэра при дозаривании (а) и хранении (б): 1 - контроль; 2 - *Ps. fluorescens* шт. 228

На рисунке 3.29 показана активность фенолоксидазы томатов сорта Кунэра. В процессе созревания и в начальный период хранения в варианте с обработкой бактериальной суспензией *B. subtilis* Ч13 активность фермента, катализирующего механизмы устойчивости растений к различным стрессам, выше, чем в контроле.

За время хранения томатов произошло снижение активности фермента более, чем в 2 раза во всех вариантах эксперимента, что очевидно, обусловлено пониженной температурой хранения, уменьшением количества полифенолов. Частичное ингибирующее воздействие биопрепарата на фенолоксидазу по сравнению с контролем в процессе хранения может быть связано с повышением активности тирозиназы в этот период.

Тирозиназа относится к полифенолоксидазам и катализирует окисление тирозина, фенолов, пирокатехина, крезолов и других соединений, повышая устойчивость растительных тканей к поражению фитопатогенами.

На рис.3.30 показана активность тирозиназы в томатах сорта Кунэра. Установлено, что на протяжении всего периода созревания и хранения томатов тирозиназная активность плодов, обработанных бактериями-антагонистами рода *B.subtilis* Ч13, превышала активность контрольного варианта. Активность тирозиназы непрерывно повышалась на протяжении всего периода постановки эксперимента и к концу хранения превышала уровень контрольного варианта на 95%. Бактериальная суспензия *B.subtilis* Ч13 не приводит к инактивации фермента в тканях плодов.

Таким образом, обработка плодов биологическими средствами защиты оказывает воздействие на активность терминальных оксидаз, не вызывая при этом нарушений в цепи биологического окисления плодов.

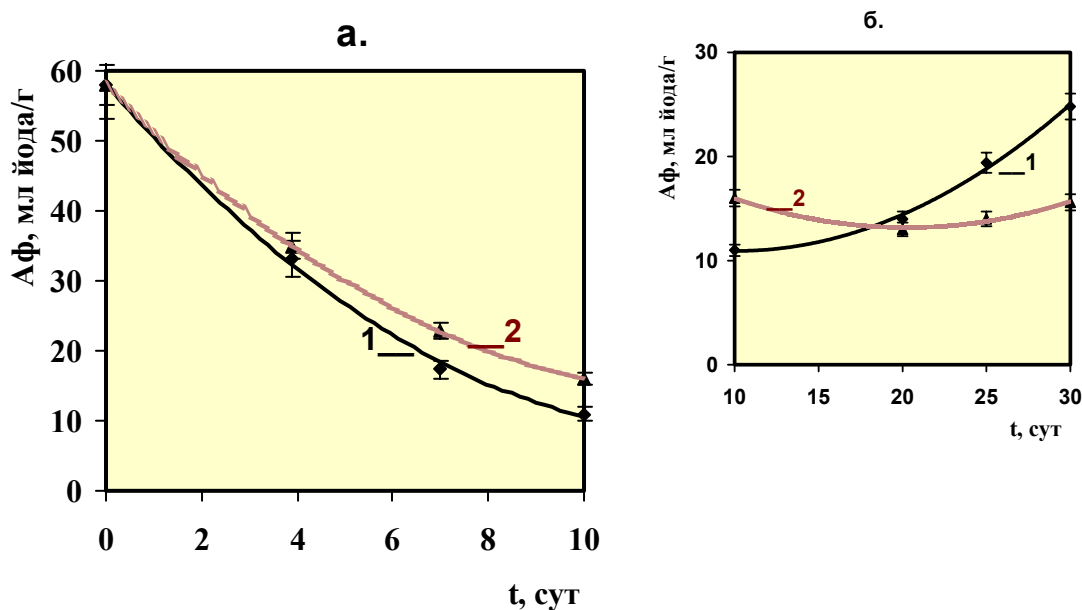


Рисунок 3.29. Активность фенолоксидазы (Аф) в томатах сорта Кунэра при дозаривании (а) и хранении (б): 1- контроль; 2- *B. subtilis* Ч13 (2003 г).

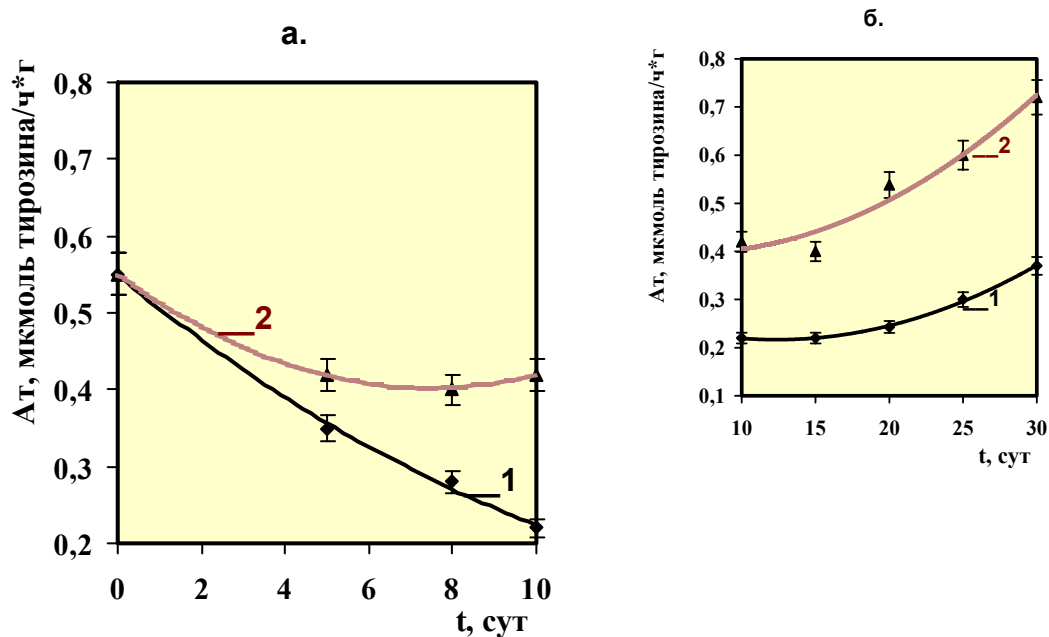


Рисунок 3.30. Активность тирозиназы (At) в томатах сорта Кунэра при дозаривании (а) и хранении (б): 1 - контроль; 2 - *B. subtilis* Ч13 (2003 г).

Дыхание, как совокупность окислительно-восстановительных процессов можно рассматривать в качестве механизмов, определяющих биохимическую адаптацию растительного организма к инфекции. Показатели интенсивности дыхания томатов и их изменения, происходящие в зависимости от вида обработки плодов и технологических режимов процессов дозаривания и хранения представлены на рис. 3.31 и 3.32

Томаты относятся к климактерическим плодам, интенсивность дыхания которых неравномерна: усиление, или так называемый климактерический подъём дыхания, часто рассматривают как поворотный пункт в жизни плода, когда его развитие и созревание уже закончены, а старение и разрушение еще не начались. Наступление подъёма дыхания у плодов при созревании контрольных и опытных вариантов происходит одновременно: на 3 – 5 сут. Томаты, обработанные бактериальной суспензией *Ps. fluorescens* шт. 228, отличались менее интенсивным климактерическим подъёмом дыхания при созревании.

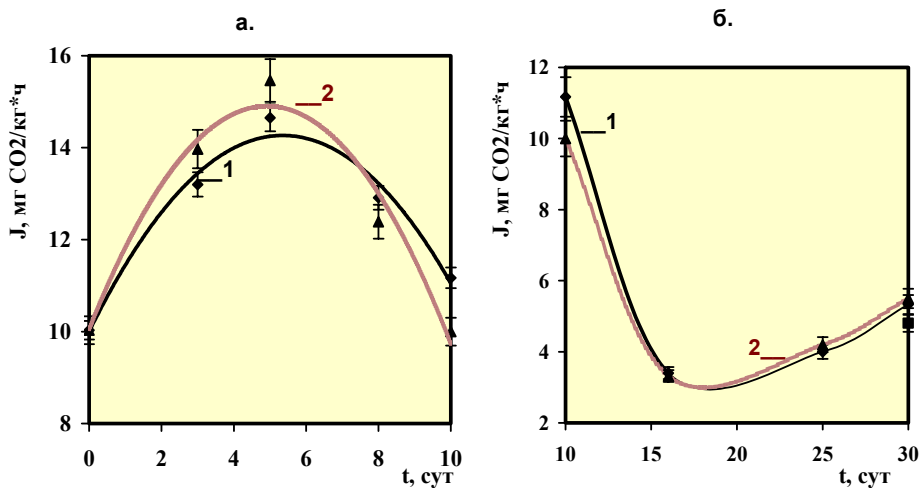


Рисунок 3.31. Интенсивность дыхания (J) в томатах сорта Кунэра при дозаривании (а) и хранении (б): 1 - контроль; 2 - *B. subtilis* Ч13 (2003 г).

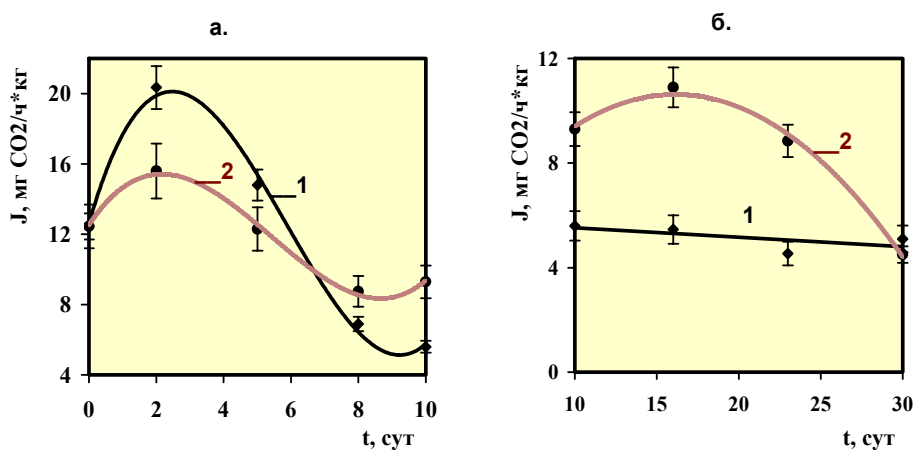


Рисунок 3.32. Интенсивность дыхания (J) в томатах сорта Кунэра при дозаривании (а) и хранении (б): 1 - контроль; 2 - *Ps. fluorescens* шт. 228 (2004 г).

Однако при последующем хранении интенсивность дыхания данных плодов возрастала, достигая к концу хранения уровень контрольного варианта.

Томаты, обработанные биопрепаратом на основе *B. subtilis* Ч13, сохраняли дыхательный газообмен на протяжении всего периода созревания и периода хранения подобно контрольным плодам.

Условия выращивания оказывают влияние на уровень дыхания. Так, наибольшая интенсивность дыхания в климактерический период наблюдалась у томатов урожая 2004 г. При закладке на хранение плоды

урожая 2003 г. оказались наиболее чувствительными к понижению температуры. В первые дни после созревания, помещенные в холодильные камеры, они резко снижали интенсивность дыхания не зависимо от вида обработки, а после адаптации уровень дыхания восстанавливался.

Пектиновые вещества играют значительную роль в защите растительной продукции от фитопатогенов при хранении. Существует мнение, что кислые пектиновые полисахариды являются потенциальным источником биологически активных олигосахаридов – регуляторов органогенеза и элиситоров образования фитоалексинов [Родионова Н.А., Безбородов, 1977].

Как следует из данных, представленных на рис.3.33 и 3.34, в процессе созревания томатов происходит увеличение содержание суммы пектиновых веществ во всех вариантах опыта. Накопление пектинов можно объяснить гидролитическим распадом сложных комплексных соединений, основное количество пектинов образуется за счет неполного окисления сахаров до галактуроновой кислоты, являющейся главным компонентом пектинов.

В процессе хранения томатов количество пектиновых веществ уменьшается. Их разрушение происходит в основном в результате действия пектолитических ферментов. В томатах, обработанных биопрепаратами, гидролиз пектиновых веществ замедляется. Это связано, вероятно, с влиянием биопрепаратов на активность пектолитических ферментов, прежде всего на активность полигалактуроназы.

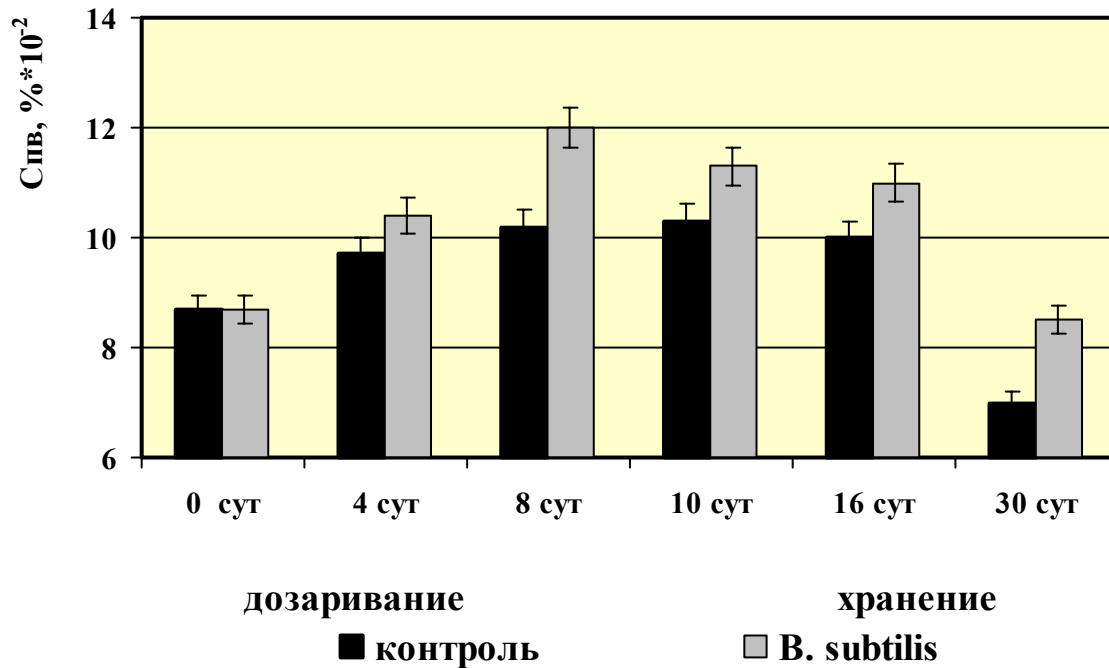


Рисунок 3.33. Изменение содержания пектиновых веществ (Спв) в томатах сорта Кунэра (2003 г.) при дозаривании и хранении.

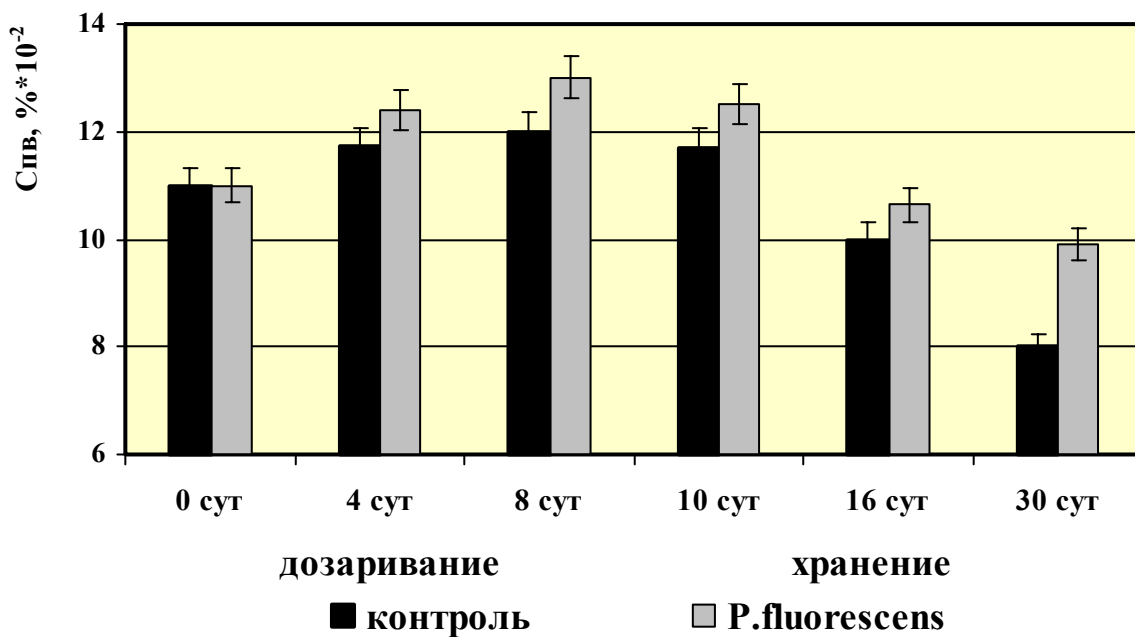


Рисунок 3.34. Изменение содержания пектиновых веществ (Спв) в томатах сорта Кунэра (2004 г.) при дозаривании и хранении.

Известно, что основное значение пектиновых веществ состоит в их высокой водоудерживающей способности, обуславливающей поддержание тургора тканей. Обработка томатов биологическими средствами защиты обеспечивает сохранение тургора и плотности мякоти плодов, снижая общие потери пектиновых веществ в процессе хранения томатов, что, в конечном счете, повышает сохраняемость плодов при хранении.

Органические кислоты, являясь энергетическим материалом для дыхания плодов, участвуют в метаболизме клетки. Известно также, что от содержания органических кислот зависит состояние плода, устойчивость к развитию микроорганизмов. В томатах содержится примерно одинаковое количество лимонной и яблочной кислот [Бэртон, 1985, Нижарадзе, Кахниашвили и др., 1975]. На рис. 3.35 представлены результаты исследования влияния обработки плодов на изменение содержания органических кислот в томатах.

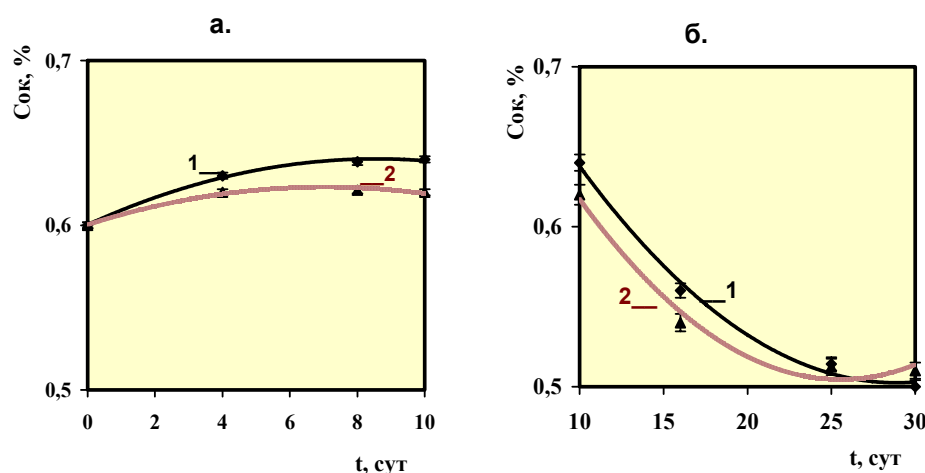


Рисунок 3.35. Содержание органических кислот (Cок) в томатах сорта Кунэра при дозаривании (а) и хранении (б): 1 – контроль; 2 - *B. subtilis* Ч13 (2003 г).

В период климактерического подъёма дыхания происходит повышение проницаемости мембран, в частности тонопласта, вследствие чего скорость поступления органических кислот из вакуоли в цитоплазму возрастает. С этим связана активация фермента малат-дегидрогеназы декарбоксилирующей. Ускорение процесса декарбоксилирования органических кислот приводит к накоплению пировиноградной кислоты, что является причиной увеличения общей концентрации органических кислот на стадии созревания. Дальнейшее

уменьшение содержания органических кислот связано с вовлечением их в процесс окисления и снижением активности малат-дегидрогеназы декарбоксилирующей.

На основании полученных данных обработка плодов бактериальной суспензией *Bacillus subtilis* шт Ч13 незначительно увеличивает количественные потери кислот, не нарушая нормального процесса обмена органических кислот в томатах. Лишь в самом конце хранения томатов отмечен несколько больший уровень содержания кислот в опыте, чем в контроле.

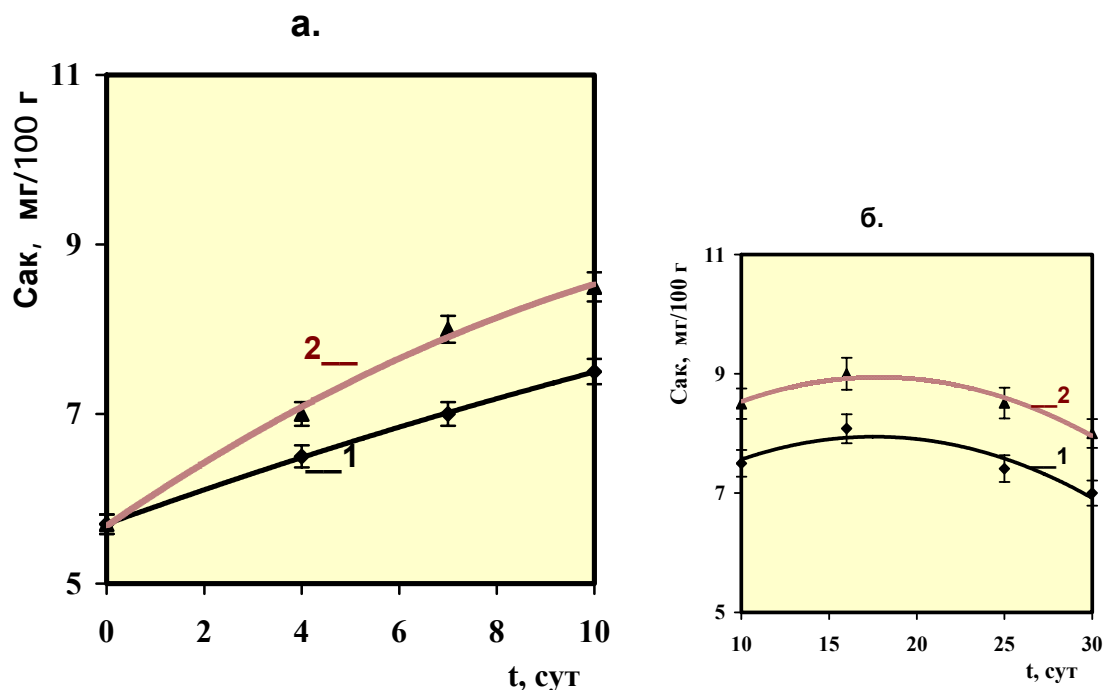


Рисунок 3.36. Содержание аскорбиновой кислоты (Сак) в томатах сорта Кунэра при дозаривании (а) и хранении (б): 1 – контроль; 2 – *B. subtilis* Ч13 (2003 г).

Аскорбиновая кислота является одним из самых сильных восстановителей в живом организме. На рис.3.36 показана зависимость изменения содержания аскорбиновой кислоты в томатах сорта Кунэра в зависимости от условий проведения эксперимента.

В процессе созревания происходит увеличение содержания аскорбиновой кислоты, как в контроле, так и в опытных партиях, что связано, скорее всего, с высвобождением её из связанной формы. В томатах, обработанных биопрепаратом на основе *Bacillus subtilis* шт Ч13, аскорбиновая кислота при хранении сохранялась также лучше по сравнению

с томатами контрольного варианта. И даже в конце хранения обработанные плоды томатов обладали высокой С-витаминной активностью.

3.3. Товароведные и фитопатологические показатели качества

Хранение растительной продукции – сложный технологический, биохимический и физиологический процесс. На результаты хранения существенно влияет исходное качество плодов и овощей, которое зависит в основном от сорта, технологии выращивания, способов уборки и закладки на хранение.

При хранении продукции растениеводства в результате биохимических процессов происходит изменение её товарного качества. Основными показателями товарного качества, с помощью которых можно судить об эффективности применения средств защиты, является выход стандартной продукции. Такие показатели, как цвет, вкус, запах, форма являются биологической принадлежностью сорта и вида, значительно изменяются в зависимости от природно-климатических и агротехнических условий выращивания и поэтому при оценке качества не учитывались.

Данные, приведенные в табл. 3.6, свидетельствуют о том, что товарное качество картофеля, обработанного бактериями-антагонистами перед закладкой на хранение, выше относительно контроля. Так, через 8 месяцев хранения выход стандартных клубней в контроле снизился на 24,8-15,9%, в зависимости от сорта картофеля, в опытных партиях снижение стандарта составило 12,2-4,0% в зависимости от сорта картофеля и штамма бактерий - антагонистов. Абсолютный отход в контрольных партиях картофеля сорта Невский составил в среднем 5,9%, сорта Детскосельский – 3,4%, в опытных партиях картофеля сорта Невский – 0,5%, сорта Детскосельский – 0,9% в зависимости от штамма бактерий-антагонистов.

Таблица 3.6 Товарное качество картофеля после 8 мес хранения

Продукт	Вид обработки	Товарное качество, %		
		стандарт	нестандарт	абсолютный отход
Картофель	Контроль	75.2	21.4	3.4
		84.1	10.0	5.9
Сорт Детскосельский	<i>Ps.sp.35</i>	92.0	7.5	0.5
		96.0	3.0	1.0
	<i>Ps.sp.73</i>	91.4	8.1	0.5
		95.0	4.5	0.5

Сорт Невский	<i>Ps.sp.115</i>	92.0	8.0	0.0
		95.5	4.5	0.0
	<i>Ps.aureofaciens</i> 35	92.9	7.1	0.0
		—	—	—
	<i>Ps.fluorescens</i> 15	91.6	6.9	1.5
		—	—	—
	<i>Ps.fluorescens</i> КО	87.8	9.6	2.6
		—	—	—

Инокулирование растительной продукции штаммами антагонистов служит своего рода барьером для развития микроорганизмов – возбудителей порчи, что оказывает влияние на выход готовой продукции и на сокращение потерь. Нашими исследованиями установлено, что применение биологических средств защиты позволяет сократить потери от инфекционных заболеваний при хранении продукции растениеводства.

Наиболее важно предотвратить развитие первичной инфекции в самом начале хранения, так как она ослабляет устойчивость растения и облегчает проникновение в него возбудителей других заболеваний, которые, как правило, не поражают самостоятельно данное растение. Применение же биологических средств защиты сразу после сбора урожая предотвращает активное развитие плесеней и бактерий, находящихся на поверхности фруктов и овощей, препятствует их проникновению вглубь тканей. Конкуренция между бактериями-антагонистами и фитопатогенами наблюдается уже на самых ранних стадиях инфекционного процесса. В этот период главную роль в конкуренции играют антагонисты, так как патоген в это время наиболее чувствителен к разного рода воздействиям, они (антагонисты) способны даже передвигаться по пораженным гифам мицелия и усиленно размножаться на них, закрепляясь на неровных поверхностях клеток оболочек гриба, продукты же метаболизма бактерий могут проникать вглубь растения – хозяина, оставаясь там более продолжительное время. Накопление микроорганизмов вблизи прорастающего мицелия происходит в результате их стремления к выделениям грибов, что в конечном итоге ведет к лизису их мицелия [Old, Schippers, 1973]. В результате этого первого этапа взаимодействия происходит снижение потенциального инокулюма патогена и первичной инфекции растения.

К концу хранения количество пораженных фитопатологическими заболеваниями клубней увеличивается не зависимо от условий хранения (табл.3.7).

Таблица 3.7. Фитопатологические показатели сохраняемости картофеля после 8 мес хранения

Вид обработки	Сорт	Здоровые клубни, %	Клубни, пораженные болезнями, %
---------------	------	--------------------	---------------------------------

			Фито- фтороз	Фуза- риоз	Фомоз	Ризок- тониоз	Смешанная инфекция
Контроль сухой	Детскосельский	75.2	6.2	8.1	1.4	0.5	8.6
	Невский	84.1	5.0	6.7	1.2	1.0	2.0
Контроль мокрый	Детскосельский	73.8	9.5	5.3	1.5	0.5	9.4
	Невский	—	—	—	—	—	—
Ps.sp.35	Детскосельский	92.0	1.6	2.6	1.0	0.0	2.8
	Невский	96.0	0.0	1.5	1.0	0.0	1.5
Ps.sp.73	Детскосельский	91.4	1.8	2.6	0.0	0.0	4.2
	Невский	96.0	0.5	0.5	0.0	0.0	3.0
Ps.sp.115	Детскосельский	92.0	0.8	2.6	0.5	0.0	4.1
	Невский	95.5	0.0	0.5	0.5	0.0	3.5
Ps. aureofaciens 35	Детскосельский	92.9	1.9	2.0	0.0	0.0	3.2
	Невский	—	—	—	—	—	—
Ps.fluorescen s KO	Детскосельский	87.8	2.6	3.1	1.0	0.5	5.0
	Невский	—	—	—	—	—	—
Ps.fluorescen s 15	Детскосельский	91.6	1.7	1.7	0.8	0.0	4.2
	Невский	—	—	—	—	—	—

Особенно интенсивно в этот период хранения развиваются возбудители фузариоза, фитофтороза, которые усиливают патологический процесс. Отдельные виды бактерий были трудноразличимы, так как образовывали смешанные инфекции. В опытных партиях развитие смешанных гнилей, которые являются главной причиной потерь растительной продукции при хранении, было незначительным.

Фитопатологический анализ показал, что обработка картофеля бактериями – антагонистами уменьшила количество клубней, пораженных инфекционными заболеваниями, особенно эффективно для сорта Детскосельский применение биопрепаратов на основе *Ps.aureofaciens* 35, *Ps.sp.115*, *Ps. sp. 35*: после 8 мес хранения количество пораженных клубней ниже в среднем на 14-19 % относительно «мокрого» контроля (опрыскивание клубней водой) и на 13-18 % относительно «сухого» (без обработки водой) в зависимости от вида и штамма антагониста. Максимальный защитный эффект для картофеля сорта Невский проявляют бактерии рода *Pseudomonas* штамм 35 и 73: после 8 мес хранения количество здоровых клубней выше на 12 % относительно контроля. Опытно-промышленное хранение моркови и товароведные анализы показали, что после 7 месяцев хранения количество стандартных корнеплодов сорта Нандрин в опыте выше на 6.0 – 12.0 %, сорта Лосиноостровская–13 – на 28.4 %, а сорта Нантская–4 – на 11.5 - 26.4 % по сравнению с контролем в зависимости от вида обработки. Наибольшее снижение потерь моркови при

длительном холодильном хранении достигается при применении бактериальной суспензии 10^8 кл/мл (табл.3.8).

Таблица 3.8 Товарное качество моркови после 7 месяцев хранения

Вид обработки	Сорт	Товарное качество, %		
		стандарт	нестандарт	абсолютный отход
Контроль	Нантская – 4	61.0	20.8	18.2
	Нандрин	84.0	12.0	4.0
	Лосиноостровская- 13	62.5	21.3	16.2
Ps.fluorescens КО	Нантская – 4	72.5	15.6	11.9
	Нандрин	—	—	—
	Лосиноостровская- 13	—	—	—
Ps.fluorescens 7	Нантская – 4	77.0	14.7	8.3
	Нандрин	—	—	—
	Лосиноостровская- 13	—	—	—
Ps.fluorescens 4	Нантская – 4	79.3	12.8	7.9
	Нандрин	—	—	—
	Лосиноостровская-13	—	—	—
B.megatherium	Нантская – 4	87.4	13.1	0.5
	Нандрин	—	—	—
	Лосиноостровская-13	—	—	—
B.subtilis Ч13 10^9 кл/мл	Нантская – 4	—	—	—
	Нандрин	90.0	10.0	0.0
	Лосиноостровская-13	—	—	—
B.subtilis Ч13 10^8 кл/мл	Нантская – 4	—	—	—
	Нандрин	96.0	4.0	0.0
	Лосиноостровская-13	90.9	8.4	0.7

По результатам фитопатологического анализа установлено, что морковь сорта Нантская–4, обработанная культуральной жидкостью Ps.fluorescens КО, и морковь сорта Нандрин в варианте с Bac.subtilis Ч13 в большей степени подвержены поражению склеротиниозом, в меньшей – ботритиозом (табл.3.9). Корнеплоды (сорт Нантская–4), обработанные суспензией Bac. megatherium в первые месяцы хранения поражались склеротиниозом, а в последние (апрель-май) количество корнеплодов, пораженных ботритиозом, увеличилось в полтора раза по сравнению с инфицированием склеротиниозом.

Наиболее эффективной оказалась обработка моркови сорта Нантская–4 бактериями родов Bac.megatherium и Ps.fluorescens 4 (к концу хранения здоровых корнеплодов в данных партиях сохранилось на 26.4 % и 18.3 % соответственно больше, чем в контроле). Применение для сорта Нандрин бактериальной суспензии Bac.subtilis Ч13 с концентрацией 10^8 кл/мл эффективнее, чем при использовании концентрации 10^9 кл/мл. Активность

действия данного штамма падает с возрастанием титра бактериальных клеток в применяемой суспензии.

Таблица 3.9. Фитопатологические показатели сохраняемости моркови после 7 месяцев хранения

Контроль	Сорт	Здоровые корнеплоды %	Корнеплоды, пораженные болезнями, %		
			Ботритиоз	Склеротиниоз	Смешанные инфекции
Контроль	Нантская – 4	61.0	13.8	17.1	8.1
	Нандрин	84.0	1.0	11.0	4.0
Ps.fluorescens КО	Нантская – 4	72.5	9.9	11.0	6.6
	Нандрин	—	—	—	—
Ps.fluorescens 7	Нантская – 4	77.0	14.0	6.2	2.8
	Нандрин	—	—	—	—
Ps.fluorescens 4	Нантская – 4	79.3	6.2	9.9	4.6
	Нандрин	—	—	—	—
B.megatherium	Нантская – 4	87.4	5.9	4.2	2.5
	Нандрин	—	—	—	—
B.subtilis Ч13 10 ⁹ кл/мл	Нантская – 4	—	—	—	—
	Нандрин	90.0	4.0	6.0	0.0
B.subtilis Ч13 10 ⁸ кл/мл	Нантская – 4	—	—	—	—
	Нандрин	96.0	4.0	0.0	0.0

В процессе хранения томаты инфицируются фитопатогенами, среди которых в основном преобладают альтернариоз (*Alternaria solani*), антракноз (*Colletotrichum phomoides*), склеротиниоз (*Sclerotinia sclerotiorum*), фитофтороз (*Phytophthora infestans*), а также мокрая бактериальная гниль (*Erwinia caratovora*). В таблице 3.10 представлены результаты фитопатологического анализа.

Фитопатологический анализ показал, что обработка томатов сорта Кунэра снижает поражаемость плодов инфекционными заболеваниями. Отдельные виды патогенов были трудноразличимы. После одного месяца хранения количество пораженных плодов, обработанных бактериальными суспензиями, было ниже на 29-33% относительно контрольного варианта. Наиболее эффективна обработка бактериями рода *Pseudomonas*.

Таблица 3.10. Фитопатологические показатели сохранности томатов сорта Кунэра

Вариант	Количество плодов, %			
	здоровых	поражённых болезнями		
		Всего	альтернариоз	смеш.инфекции
Контроль	86,0±1,66	14,0±0,32	2,0±0,05	12,0±0,22
<i>B. subtilis</i> Ч13	90,0±1,50	10,0±0,50	4,0±0,10	6,0±0,13
<i>Ps. fluorescens</i> шт. 228	91,0±1,79	9,0±0,16	4,0±0,10	5,0±0,11

Применение биологических средств защиты ориентируется не на абсолютное подавление патогенеза растительной продукции, сколько на относительное, но зато более стабильное. Принцип такой защиты состоит не в тотальном уничтожении патогенных микроорганизмов, а в регуляции их численности до хозяйственно неощутимого уровня.

Заключение

Биопрепараты на основе микробов-антагонистов, характеризующиеся антагонистической активностью в отношении фитопатогенов оказывают фунгистатическое и бактериостатическое действие, а в некоторых случаях также фунгицидное и (или) бактерицидное. Не исключено, что антагонисты воздействуют на иммунные системы, стимулируя их включение в тканях растения и изменяя тем самым предрасположенность растительных тканей к заболеванию. Помимо сенсibilизации растения, т.е. повышения иммунного ответа на последующее заражение патогеном, антагонисты и их продукты жизнедеятельности, могут индуцировать накопление фунгитоксичных низкомолекулярных соединений – фитоалексинов.

Показано, что обработка биологическими средствами защиты картофеля и овощей стабилизирует физиолого-биохимические процессы в растительной ткани, что позволяет максимально сохранить биологически активные и пищевые вещества в течение длительного времени. Активизируются защитные реакции растительного организма: интенсивнее идет накопление пектиновых веществ, суберина, фенольных соединений, образуется большее число клеточных рядов раневой перидермы, повышается активность оксидаз.

По ряду товароведных и фитопатологических показателей качества показана принципиальная возможность сокращения потерь растительной продукции, в частности, картофеля, моркови и томатов, от фитопатогенов при длительном холодильном хранении с помощью бактерий-антагонистов родов *Pseudomonas* и *Bacillus*.

Можно ожидать, что использование биологического способа защиты овощной продукции при хранении не создаст угрозы нарушения экологического равновесия в биосфере, так как микроорганизмы, выделяемые из природных объектов и вносимые опять в естественные условия в качестве биопрепаратов, позволяют избежать нежелательных изменений в биоценозах, сохранить полезные организмы и получать экологически безопасную сельскохозяйственную продукцию.

Chapter 1

Summary

Приведенные данные показали, что бактерии рода *Bacillus* являются одной из основных групп микробного сообщества почвы и ризосферы растений. Более того, они достаточно часто выделяются из внутренних частей растений (корней, стеблей, семян, клубеньков), что свидетельствует об их тесных взаимоотношениях с растениями. Многие выделенные штаммы бацилл обладают рядом хозяйственно-ценных свойств. Они способны продуцировать биоконтрольные вещества (антибиотики, сидерофоры, литические ферменты, токсины), фитогормоны и витамины, способностью фиксировать азот атмосферы. Важной особенностью бацилл, обитающих в ризосфере, на корнях и внутри растений, является их высокая конкурентоспособность при колонизации соответствующих частей растений и образовании бактериально-растительных ассоциаций. Все перечисленные свойства бацилл делают их одними из самых перспективных штаммов на создание микробиологических препаратов и удобрений, обладающих комплексом хозяйственно-ценных свойств. Это в полной мере подтверждается данными по изучению биоконтрольных и ростстимулирующих свойств штамма *Bacillus subtilis* Ч-13-продуцента микробиологического удобрения Экстрасол. Эти свойства штамма-продуцента оказывают комплексный эффект при применении Экстрасола для бактериализации семян или для обработок по вегетирующим растениям.

(по главе2)

Оценка эффективности использования биопрепарата экстрасол проведена в различных почвенно-климатических условиях Российской Федерации и сопредельных государств на яровой пшенице, озимой пшенице, озимой ржи, ячмене, горохе, гречихе, картофеле, льне-долгунце, подсолнечнике, хлопчатнике, табаке и некоторых овощных культурах.

Выявлено, что обработка до посева семян биопрепаратом, созданном на основе бактерий рода *Bacillus* повышает всхожесть семян и энергию их прорастания, увеличивает устойчивость растений в период вегетации к неблагоприятным факторам внешней среды.

Озимые зерновые культуры, выращиваемые с использованием биопрепарата, лучше сохраняются при перезимовке в результате повышения устойчивости к болезням. Использование биопрепарата способствует снижению пораженности растений грибковыми заболеваниями и другими болезнями. В период вегетации за счет деятельности микроорганизмов, входящих в состав биопрепарата, повышается обеспеченность растений азотом и другими элементами минерального питания, интенсивнее

происходит накопление надземной фитомассы растений и корневой системы.

В результате лучших условий роста и развития растений при использовании биопрепарата экстрасол повышается урожайность растений на 10-45%, эквивалентно внесению под культуры азотного удобрения в дозе 30-45 кг/га, то есть обеспечивает дополнительное вовлечение в агроценозы биологического азота, а также фосфора и калия за счет почвенных запасов. За счет повышения урожайности и увеличения накопления в урожае элементов питания возрастает коэффициент использования азота и других элементов питания из минеральных удобрений и их оплату прибавкой урожая.

Нанесение биопрепарата, созданного на основе штамма *Bacillus subtilis* Ч-13, улучшает азотное питание яровой пшеницы, что положительно сказывается на повышении урожайности зерна, при этом биопрепарат эффективнее при внесении аммиачной селитры в дозе 45 кг/га. Внесение под яровую пшеницу аммиачной селитры, обработанной биопрепаратом, увеличивает коэффициент использования растениями азота удобрения, повышается накопление в урожае не только азота, но и фосфора и калия.

(по главе3)

Биопрепараты на основе микробов-антагонистов, характеризующиеся антагонистической активностью в отношении фитопатогенов оказывают фунгистатическое и бактериостатическое действие, а в некоторых случаях также фунгицидное и (или) бактерицидное. Не исключено, что антагонисты воздействуют на иммунные системы, стимулируя их включение в тканях растения и изменяя тем самым предрасположенность растительных тканей к заболеванию. Помимо сенсibilизации растения, т.е. повышения иммунного ответа на последующее заражение патогеном, антагонисты и их продукты жизнедеятельности, могут индуцировать накопление фунгитоксичных низкомолекулярных соединений – фитоалексинов.

Показано, что обработка биологическими средствами защиты картофеля и овощей стабилизирует физиолого-биохимические процессы в растительной ткани, что позволяет максимально сохранить биологически активные и пищевые вещества в течение длительного времени. Активизируются защитные реакции растительного организма: интенсивнее идет накопление пектиновых веществ, суберина, фенольных соединений, образуется большее число клеточных рядов раневой перидермы, повышается активность оксидаз.

По ряду товароведных и фитопатологических показателей качества показана принципиальная возможность сокращения потерь растительной продукции, в частности, картофеля, моркови и томатов, от фитопатогенов при длительном холодильном хранении с помощью бактерий-антагонистов родов *Pseudomonas* и *Bacillus*.

Можно ожидать, что использование биологического способа защиты овощной продукции при хранении не создаст угрозы нарушения экологического равновесия в биосфере, так как микроорганизмы, выделяемые из природных объектов и вносимые опять в естественные условия в качестве биопрепаратов, позволяют избежать нежелательных изменений в биоценозах, сохранить полезные организмы и получать экологически безопасную сельскохозяйственную продукцию.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреева В.А. Фермент пероксидаза: участие в защитном механизме растений. – М.: Наука, 1988. – 127 с.
2. Аристовская Т.В. Микробиология подзолистых почв – М.: Наука, 1975. – 188 с.
3. Архипова Т.Н., Мелентьев А.И., Веселов С.Ю. Возможное участие цитокининов в рострегулирующем действии бактерий рода *Bacillus* // Материалы научн. конф., 24-26 окт. 2001 г. – Уфа, 2001. Т. 1. – С. 12-13.
4. Байрамов Л.Э. Азотное питание и продуктивность ячменя при использовании биопрепаратов: Автореф. дис... канд. биол. наук. – М.: ВИУА, 2000. – 25 с.
5. Бейли Дж. Фитоалексины. – Киев: Наукова Думка, 1982. – 320 с.
6. Биохимия фенольных соединений / Под ред. Дж. Харборна. – М.: Мир, 1968. – 452 с.
7. Боронин А.М. Ризосферные бактерии рода *Pseudomonas*, способствующие росту и развитию растений // 1998. www.pereplet.ru/obrazovanie/stsoros/641.html.
8. Боронин А.М., Кочетков В.В. Биологические препараты на основе псевдомонад. – Агро-XXI, 2000. №3. – С. 3-5.
9. Бриттон Г. Биохимия природных пигментов. – М.: Мир, 1986. – 422 с.
10. Бэртон У.Г. Физиология созревания и хранения продовольственных культур. / Пер. с англ. И.М. Спичкина под ред. Н.В. Обручевой – М.: Агропромиздат, 1985. – 359 с.
11. Волков Е.Г. Влияние биопрепаратов и азотного удобрения на урожайность и качество зерна озимой ржи и ячменя на дерново-слабоподзолистой среднесуглинистой почве: Автореферат дис... канд. с.-х. наук. – М.: НИИСХ ЦРНЗ, 2003. – 17 с.
12. Воробейков Г.А. Микроорганизмы, урожай и биологизация земледелия. – СПб., 1998. – 120 с.
13. Воробьева Л.А. Влияние удобрений и diaзотрофных препаратов на урожай и качество зерна овса и ячменя в дерново-подзолистой песчаной почве: Автореф дисс... канд. с.-х. наук. – М., 2000. – 19 с.
14. Гаврилов А.А. Совершенствование биологического метода защиты растений от болезней с помощью соединений из группы фенилпирролов // Тез. док. 1 конф. Сев.-Кавказ. региона. «Современные достижения биотехнологии», сентябрь, 1995. – Ставрополь, 1995. – С. 18.
15. Гойман Э. Инфекционные болезни растений. – М.: Изд-во иностр. лит-ры, 1954. – 135 с.
16. Гречкин А.Н, Тарчевский И.А. Липоксигеназная сигнальная система // Физиология растений, 1999. – Т. 46. №1. – С. 132-142.
17. Джахипов Ф.С., Корсак И.В., Мироненко Ю.Л., Гурьев М.Д., Митрофанов А.И., Алапыкина В.Н. Сравнение эффективности двух

- препаративных форм ризоплана // Тез. док. семин.-совещ. «Экологизация сельскохозяйственного производства Сев.-Кавказ. региона», 26-29 июля, 1995. – М., 1995. – С. 76-79.
18. Егоров Н.С., Ландау Н.С. Биосинтез биологически активных соединений смешанными культурами микроорганизмов // Прикладная биохимия и микробиология. 1989. – Т. 18. №6. – С. 78-81.
19. Жученко А.А. Адаптивное растениеводство. – Кишинев: Штиинца, 1990. – 432 с.
20. Жученко А.А. Ресурсный потенциал производства зерна в России (теория и практика). – М.: ООО «Издательство Агрорус», 2004. – 1100 с.
21. Завалин А.А. Биопрепараты, удобрения и урожай. – М.: ВНИИА, 2005. – 302 с.
22. Запрометов М.Н. Образование и функции фенольных соединений в высших растениях // Журнал общей биологии, 1970. – Т. 31. №2. – С. 201-222.
23. Запрометов М.Н. Фенольные соединения. Распространение, метаболизм и функции в растениях. – М.: Наука, 1993. – 272 с.
24. Иванова Т.М., Рубин Б.А. О природе фенолоксидазного действия пероксидазы // Биохимия, 1962. – Т. 27. №4. – С. 622.
25. Казарцева А.Т., Шеуджен А.Х., Нешадим Н.Н. Эколого-генетические и агрохимические основы повышения качества зерна. – Майкоп: ГУРИИПП «Адыгея», 2004. – С. 47-92.
26. Казачко И.А., Выюницкая В.А., Бережницкая Т.Г. и др. Эндифитные бактерии рода *Bacillus* – перспективные культуры для создания биологических средств защиты растений от болезней // Микробиологический журнал, 1975. – Т. 57. №5. – С. 69-78.
27. Кандаурова Т.М. Роль азотфиксаторов в перераспределении азота между вегетативными и репродуктивными органами яровой пшеницы // Бюлл. ВИУА. №110. – М., 1997. – С. 13-14.
28. Карпунина Л.В. Роль агглютинирующих белков ризобий и азотфиксирующих бацилл при взаимодействии с растением // Под ред. В.В. Игнатова. – М. Наука, 2005. – 260 с.
29. Карпунина Л.В. Значение углеводов-белкового узнавания и роль лектинов при формировании различного рода азотфиксирующих систем // Успехи соврем. биологии, 2002. – Т. 122. №6. – С. 548-556.
30. Кафели В.И. Природные ингибиторы роста и фитогормоны – М.: Наука, 1974. – 310 с.
31. Кипрушкина Е.И., Колодязная В.С., Хотянович А.В. Хранение и переработка сельскохозяйственной продукции – М.: Доклады Россельхозакадемии, 2003. – №3. – С. 47-50.
32. Кипрушкина Е.И., Колодязная В.С., Чеботарь В.К. Биологическая защита сельскохозяйственной продукции при хранении // Вестник защиты растений, 2003. – №3. – С.17-24.

33. Кирюшин В.И. Экологизация земледелия и технологическая политика. – М.: Изд-во МСХА, 2000. – 473 с.
34. Климашевский Э.Л. Генетический аспект минерального питания растений. – М.: Агропромиздат, 1991. – 415 с.
35. Кожемяков А.П., Тихонович И.А. Использование инокулянтов бобовых и биопрепаратов комплексного действия в сельском хозяйстве. – М.: Доклады Россельхозакадемии, 1998. – №6. – С. 7-10.
36. Кожемяков А.П., Чеботарь В.К. Биопрепараты для земледелия // В кн: «Биопрепараты в сельском хозяйстве» (Методология и практика применения микроорганизмов в растениеводстве и кормопроизводстве). – М.: 2005. – С. 18-54.
37. Колодязная В.С., Кипрушкина Е.И., Гудима Л.Р., Самусенко Н.В. Бактерии-антагонисты рода *Pseudomonas* инфекционных заболеваний картофеля – Сельскохозяйственные вести, 1998. – №5-6. – С. 33-35.
38. Коломиец Э.И., Здор И.А., Романовская Т.В. Свойства актиномицета *Actinomyces flavescens*, обуславливающие его фитозащитное действие // Тез. док. конф. 17-19 мая, 1994. – М., 1994. – С. 51-52.
39. Концепция развития агрохимии и агрохимического обслуживания сельского хозяйства Российской Федерации на период до 2010 года / Под ред. Г.А. Романенко. – М.: ВНИИА, 2005. – 80 с.
40. Кореньков Д.А. Агроэкологические аспекты применения азотных удобрений. – М., 1999. – 296 с.
41. Кравченко Л.В. Роль корневых экзометаболитов в интеграции микроорганизмов с растениями: Автореф. дис... докт. биол. наук. – М.: МГУ, 2000. – 45 с.
42. Кравченко Л.В., Макарова Н.М., Азарова Т.С., Проворов Н.А., Тихонович И.А. Выделение и фенотипическая характеристика ростстимулирующих ризобактерий (PGPR), сочетающих высокую активность колонизации корней и ингибирования фитопатогенных грибов // Микробиология, 2002. – Т. 71. №4. – С. 521-525.
43. Кудряшова Е.Б., Винокурова Н.Г., Арискина Е.В. *Bacillus subtilis* и фенотипически близкие штаммы – продуценты гексаэновых антибиотиков // Прикладная биох. микробиол. 2005. – Т. 41. №5. – С. 553-558.
44. Кузнецов В.Д., Гдалова Т.П. Штамм актиномицета *St. lavendulae* subsp. *aruptini* для получения аруптина // А.с. №1631083 СССР С2 Р1/06. – 28.02.91. – Бюл. №10.
45. Линевич Л.И. Лектины и углеводсвязывающие белки на разных уровнях организации живого // Успехи биол. химии. 1979. – Т. 20. – С. 71-94.
46. Лубенцова Т.Г., Симаров Б.А., Злотников К.М. Биопрепараты против гнилей при хранении // Картофель и овощи, 1994. – №4. – С. 30.
47. Максимова И.П., Лысак В.В., Блажевич О.В., Фомичев Ю.К. Штаммы *Pseudomonas putida* М продуцент // Актуальные проблемы соц.-гуманит. и естеств. наук. – Минск, 1991. – С. 153-154.

48. Медведева Т.И. и др. Роль фитоалексинов в устойчивости плодов при хранении // Прикладная биохимия и микробиология, 1971. – Т. 7. №3. – С. 334-338.
49. Менликиев М.Я., Султанова М.Х., Шарипова Н.У. Возможности биологической иммунизации хлопчатника эндофитными бактериями // В сб. «Проблемы генетики, селекции и интенсивной технологии сельскохозяйственных культур». – Душанбе, 1987. – С. 76-77.
50. Метлицкий Л.В. Основы биохимии плодов и овощей. – М.: Экономика, 1976. – 349 с.
51. Метлицкий Л.В., Озерецковская О.Л., Чалова Л.И. Фитоалексины (на примере растений семейства Solanaceae) // Успехи биологической химии, 1985. – Т. 26. – 270 с.
52. Мишина Г.Н., Талиева М.Н. Окислительные ферменты во взаимодействии растения и патогена при мучнистой росе флокса // Физиология растений, 1996. – Т. 43. №5. – С. 679-684.
53. Мишустин Е.Н. Микроорганизмы и продуктивность земледелия // – М.: Наука, 1972. – 343 с.
54. Мишустин Е.Н. Микроорганизмы как компонент биогеоценоза (методы изучения) // Под ред. Е.Н. Мишустина. – М.: Наука, 1984. – 160 с.
55. Мосолов И.В. Физиологические основы применения минеральных удобрений. – М.: Колос, 1979. – 255 с.
56. Назарюк В.М. Баланс и трансформация азота в агроэкосистемах. – Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2002. – 257 с.
57. Недорезков В.Д. Биологическая защита пшеницы от болезней в условиях Южного Урала. – М.: Изд-во МСХА, 2002. – 172 с.
58. Нижарадзе А.Н., Кахниашвили Х.А., Гелашвили Э.Д., Небиеридзе Н.И. Изменение содержания органических кислот в плодах томатов при созревании и хранении // Прикладная биохимия и микробиология, 1975. – Т. 11. №4. – С. 585-588.
59. Нугманова Т.А. Биологические препараты для защиты урожая // Тез. док. конф. 24-26 авг., 1994. – Пушкино, 1994. – С. 200-202.
60. Озерецковская О.Л., Васюкова Н.И. Новообразование фенолов в поврежденных тканях картофеля // ДАН СССР, 1965. – Т. 161. №4. – С. 968-970.
61. Озерецковская О.Л., Васюкова Н.И., Караваяева К.А., Канева И.М. Характер супрессии фитоалексинаобразования при совместимом взаимодействии расы возбудителя фитофтороза у картофеля // Прикладная биохимия и микробиология, 1993. – Т. 29. №2. – С. 328-332.
62. Оценка эффективности микробных препаратов в земледелии / Под ред. Завалина А.А. – М.: Россельхозакадемия, 2000. – 82 с.
63. Павлов А.Н. Накопление белка в зерне пшеницы и кукурузы. – М.: Наука, 1967. – 339 с.

64. Павлов А.Н. Повышение содержания белка в зерне. – М.: Наука, 1984. – 120 с.
65. Патент на изобретение № 2241692. – М., 2004.
66. Певзнер Д.И., Мишке И.В. Сравнительное изучение влияния кинетина и аденина на микроорганизмы // Физиология эпифитных и коревых микроорганизмов. – Рига, 1979. – С. 99-103.
67. Персикова Т.Ф. Научные основы эффективного использования биологического азота в условиях дерново-подзолистых легкосуглинистых почв Беларуси: Автореф. дисс... докт. с.-х. наук. – Минск: БелНИИПА, 2003. – 46 с.
68. Петров В.Б., Чеботарь В.К., Казаков А.Е. Микробиологические препараты в биологизации земледелия России. // Журнал «Достижения науки и техники АПК», 2002. – №10. – С. 16-20.
69. Родионова Н.А., Безбородов А.М. О локализации систем ферментов, катализирующих расщепление полисахаридов растительных клеточных стенок у высших растений. Пектиназы // Прикладная биохимия и микробиология, 1977. – Т. 33. №5. – С. 467-487.
70. Рубин Б.А., Арциховская Е.В. Биохимия и физиология иммунитета растений. – М.: Высшая школа, 1975. – 320 с.
71. Сабельникова В.И. Влияние *Rhizobium* на содержание индольных ауксинов в бобовых растениях // Экология и физиология почвенных микроорганизмов. Под ред. О.А. Берестецкого. – Л.: ВНИИСХМ, 1976. – С. 99-104.
72. Садыков Б.Ф. Биологическая азотфиксация в агроценозах. – Уфа, 1989. – 109 с.
73. Сапожникова Е.В. Пектиновые вещества и пектолитические ферменты. – М., 1971. – 140 с.
74. Смалый В.Т. Образование биологически активных веществ бактериями ризосферы пшеницы – Рига: Изд-во ин-та микробиологии, 1979. – Т. 11. – С. 284-291.
75. Смирнов В.В., Резник С.Р., Василевская И.А. Спорообразующие аэробные бактерии – продуценты биологически активных веществ – Киев: Наукова Думка, 1982. – 279 с.
76. Соколов М.С., Литвишко Е.Б. Биологическая защита растений в США // Защита растений, 1993. – №11. – С. 18-20.
77. Тарчевский И.А. Элиситор – индуцируемые сигнальные системы и их взаимодействие // Физиология растений, 2000. – Т. 47. №2. – С. 321-331.
78. Тевелева М.К. Применение метода биотеста *Amaranthus caudatus* L. для отбора микроорганизмов – продуцентов цитокининов // Физиология эпифитных и корневых микроорганизмов. – Рига, 1979. – С. 87-92.
79. Тихонович И.А., Кожемяков А.П., Чеботарь В.К. и др. Биопрепараты в сельском хозяйстве (Методология и практика применения микроорганизмов в растениеводстве и кормопроизводстве). – М.: Россельхозакадемия, 2005. –

154 с.

80. Тодираш В.А., Паскарь Р.П., Буйминстру Л.М. Перспективные антагонисты для борьбы с послеуборочными гнилями // Тез. док. науч.-произв. совещ. 24-26 авг. 1994. – Пушино, 1994. – С. 97.
81. Третьяков А.П., Щербаков Г.Я., Стирманова Н.И. Штамм микромицета *Trichoderma lignorum* для производства препаратов против фитопатогенных грибов // Патент РФ №2034468. – 10.05.95. – Бюл. №13.
82. Хлопцева Р.И. Биологическая борьба с серой гнилью земляники // Защита растений, 1995. – №4. – С. 40.
83. Холмецкая М.О., Лобанок Е.В. Продукция ИУК бактериями, взаимодействующими с растениями // Тез. докл. Всерос. конф. «Сельскохозяйственная микробиология в XIX-XXI веках», 14-19 июня, 2001, Санкт-Петербург. – С.-Пб., 2001. – С. 78-79.
84. Чалова Л.И., Ногайдели Д.Э., Караваева К.А., Озерецковская О.Л. Активность пероксидазы и полифенолоксидазы – маркер сенсibilизации клубней картофеля // Микология и фитопатология, 1985. – Т. 19. № 6. – С. 495-498.
85. Чумаков М.И. Оценка эффективности взаимодействия *Agrobacterium radiobacter* 5Д-1 с пшеницей // Под ред. В.В. Игнатова. – М.: Наука, 2005. – 260 с.
86. Шабаев В.П. Роль биологического азота в системе «почва-растения» при внесении ризосферных микроорганизмов: Автореферат дисс... докт. биол. наук. – М.: МГУ, 2004. – 46 с.
87. Шавловский Г.М. Участие микроорганизмов ризосферы в снабжении растений витаминами – Рига: Изд-во ин-та микробиологии, 1979. – Т. 10. – С. 214-231.
88. Шевелуха В.С. Рост растений и его регуляция в онтогенезе. – М.: Колос, 1992. – 594 с.
89. Шенин Ю.Д., Белых В.В., Рожкова Н.Г. Фунгицидная активность имбрицила и его солей // Антибиотики и химиотерапия, 1996. – Т. 41. №6. – С. 21-24.
90. Шенин Ю.Д., Кругликова Л.Ф., Калько Г.Н., Новикова И.И. Характеристика алерина В1 – основного компонента фунгицидного препарата, продуцируемого штаммом *Bacillus subtilis* 10-ВИЗР // Антибиотики и химиотерапия, 1995. – Т. 40. №5. – С. 3-7.
91. Шутьпина И.Ю. Калийные удобрения в системе комплексного применений средств химизации под зерновые культуры на дерново-подзолистой тяжелосуглинистой почве: Автореф. дисс... канд. с.-х. наук. – М.: ВИУА, 1998. – 18 с.
92. Abdel Wahab A.M. Nitrogen fixation by *Bacillus* strains isolated from the rhizosphere of *Ammophila arenaria* // Plant Soil, 1975. Vol.42. P.703-708.
93. Altieri M.A. How best can we use biodiversity in agroecosystems? // Outlook Agric. 1991. Vol.20. P.15-23.

94. Andrews J.M., Berbee F.M. et. al. Microbial antagonism to the infected stage of the apple scab pathogen *Venturia indequalis* // *Phytopathology*, 1983. V.73. P.228-234.
95. Ash C., Farrow J.A.E., Wallbanks S., Collins M.D. Phylogenetic heterogeneity of the genus *Bacillus* revealed by comparative analysis of small subunit-ribosomal RNA sequences // *Lett. Appl. Microbiol.*, 1991. Vol.13. P.202-206.
96. Ash C., Priest F.G., Collins M.D. Molecular identification of rRNA group 3 bacilli (Ash, Farrow, Wallbanks and Collins) using a PCR probe test. Proposal for the creation of a new genus *Paenibacillus* // *Antonie van Leeuwenhoek*, 1993. Vol.64. P.253-260.
97. Bai Y., Zhou X., Smith D.S. Enhanced soybean plant growth resulting from coinoculation of *Bacillus* strains with *Bradyrhizobium japonicum* // *Crop Sci.*, 2003. Vol.43. P.1774-1781.
98. Baker K.F., Cook J.R. *Biological Control of Plant Pathology* // W.H. Freeman. San Francisco, USA, 1974. 177p.
99. Bal A.S., Chanway C.P. Isolation and characterization of endophytic bacteria from lodgepole pine and western red cedar // *Plant and Soil*, 1999. Vol.174. P.35-41.
100. Balasundaram V.R., Sen A. Effect of bacterization of rice (*Oryza sativa* L.) with *Beijerinckia* // *Indian J.Agr.Sci.*, 1971. Vol.41. P.700.
101. Barea J.M. Vesicular-arbuscular mycorrhizae as modifiers of soil fertility // *Adv. Soil Sci.*, 1991. Vol.15. P.2-40.
102. Berger F., Hong Li, White D., Schulz U.M., Werner D. Konstruktion von RAPD-Sonden für die Quantifizierung von *Bacillus subtilis* FZB C und dessen antagonistische Wirksamkeit im System *Cucumis sativus* *Pythium ultimum* // *Z.Pflanzenkrankh. Pflanzenschutz*, 1996. Vol.105. P.168-180.
103. Bhatt D.D., Vaugham E.K. Preliminary investigation on biological control of grey mold of strawberries // *Plant Dis.*, 1982. V.66. P.342-345.
104. Bloemberg G.V., Wijfjes A.H.M., Lamers G.E.M., Stuurman N., Lugtenberg B.J.J. Simultaneous imaging of *Pseudomonas fluorescens* WCS365 populations expressing three different autofluorescent proteins in the rhizosphere: new perspectives for studying microbial communities // *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 2000. Vol.13. P.1170-1176.
105. Bowen G.D., Rovira A.D. Microbial colonization of plant roots // *Annu. Rev. Phytopathol*, 1976. Vol.14. P.121-144.
106. Brandl M.T., Lindow S.E. Contribution of IAA production to the epiphytic fitness of *Erwinia herbicola* // *Appl. Environ. Microbiol.*, 1998. Vol.64. №9. P.3256-3263.
107. Brown M.E. Seed and root bacterization // *Annu. Rev. Phytopathol*, 1974. Vol.12. P.181.
108. Brown M.E., Jackson R.M., Burlingham S.K. Effects produced on tomato plants, *Lycopersicon esculentum*, by seed or root treatment with gibberelic acid and indolyl-3-acetic acid // *J. Exp. Bot.*, 1968. Vol.19. P.544.
109. Cambaradella C.A., Elliott E.T. Particulate soil organic matter changes across a grassland cultivation sequence // *Soil Sci.Soc. Am. J.*, 1992. Vol.56. P.777-783.

110. Chanway C.P., Holl F.B., Turkington R. Genotypic coadaptation in plant growth promotion of forage species by *Bacillus polymyxa* // Plant and Soil, 1988. Vol.106. P.281-284.
111. Chanway C.P., Nelson L.M. Field and laboratory studies of *Triticum aestivum* L. inoculated with co-existent growth-promoting *Bacillus* strains // Soil Biol. Biochem., 1990. Vol.22. P.789-795.
112. Chanway C.P., Nelson L.M., Holl F.B. Cultivar specific growth promotion of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) by coexistent *Bacillus* species // Can.J. Microbiol., 1988. Vol.34. P.925-929.
113. Chebotar V., Khotyanovich A., Cazacov A. EXTRASOL – A new multifunctional biopreparation for ecologically safe agriculture // In: Practice Oriented Results on Use and Production of Neem Ingredients and Pheromones IX. H.Kleeberg&C.P.W.Zebitz (eds), 2000. Druck&Graphic, Giessen. P.127-134.
114. Chen C., Bauske E.M., Musson G. et al. Biological control of *Fusarium* wilt on cotton by use of endophytic bacteria // Biological Control, 1995. Vol.5. №1. P.83-91.
115. Chernin L., Izmailov Z., Haran S. et al. Chitinolytic *Enterobacter agglomerans* antagonistic to fungal plant pathogens // Appl. Environ. Microbiol., 1995. Vol.61. P.1720-1726.
116. Chin-A-Woeng T.F.C., de Priester, W., van der Bij, A.J., Lugtenberg B.J.J. Description of the colonization of a gnotobiotic tomato rhizosphere by *Pseudomonas fluorescens* biocontrol strain WCS365 using scanning electron microscopy // Mol. Plant-Microbe Interact., 1997. Vol.10. P.79-86.
117. Coleman D.C., Hendrix P.F. Agroecosystem process // In: Ecological studies. Ed.L.R. Pomeroy and J.J. Alberts. Springer Verlag, New York, NY. 1988. P.149-170.
118. Collins H.P., Rasmussen P.E., Douglas C.L.Jr. Crop rotation and residue management effects on soil carbon and microbial dynamics // Soil Sci. Am. J., 1988. Vol.56. P.783-788.
119. Colyer P.D., Mount M.S. Bacterization of potatoes with *Pseudomonas putida* and its influence on postharvest soft rot diseases // Plant Disease, 1984. V.68. P.703-706.
120. Compant S., Duffy B., Nowak J. et al. Use of PGPB for biological control of plant diseases: principles, mechanisms of action and future prospects // Appl. Environ. Microbiol., 2005. Vol.71. №9. P.4951-4959.
121. Compant S., Reiter B., Sessitsch A. et al. Endophytic colonization of *Vitis vinifera* L. by a PGPB *Burkholderia* sp. strain PsJn // Appl. Environ. Microbiol., 2004. Vol.71. P.1685-1693.
122. Condon P., Kuc J. Isolation of a fungitoxic compound from carrot tissue inoculated with *Ceratocystis fimbriata* // Phytopathology, 1960. V.50. P.267-270.
123. Cook R.J., Baker K.F. The nature and practice of biological control and plant pathogens // American Phytopathological Society. St.Paul, Minnesota, 1983. P.539.
124. Cooper R. Bacterial fertilizers in the Soviet Union Soils // Soils Fertilizers, 1959. Vol.22. P.327.
125. Curl E.A., Truelove B. The rhizosphere // Berlin, New York. Springer Verlag, 1986. 288p.

126. Dahm H., Rozyski H., Strelczyk E., Li C.Y. Production of B-group vitamins by *Azospirillum spp.* grown in media of different pH at different temperatures // Zentralbl. Mikrobiol., 1993. Vol.148. P.195-203.
127. Darbyshire J.F., Graves M.P. Bacteria and protozoa in the rhizosphere // Pestic. Sci., 1973. Vol.4. P.349-360.
128. De Troch P., Vanderleyden J. Surface properties and mobility of *Rhizobium* and *Azospirillum* in relation to plant root attachment // Microbiol. Ecol., 1996. Vol.32., №1. P.149-169.
129. de Weger L.A., van der Vlugt C.I.M., Wijfjes A.H.M., Bakker P.A.H.M., Schippers B., Lugtenberg B.J.J. Flagella of a plant growth stimulating *Pseudomonas fluorescens* strain are required for colonization of potato roots // J. Bacteriol., 1987. Vol. 169. P.2769-2773.
130. Di Fiore S., Del Gallo M. Endophytic bacteria: their possible role in the host plant // In: *Azospirillum* and Related Microorganisms. Ed. I. Fendrik. Berlin Heidelberg. Springer, 1995. P.169-187.
131. Dileep Kumar B.S. Fusarial wilt suppression and crop improvement through two rhizobacterial strains in chick pea growing in soils infested with *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* // Biol. Fertil. Soils, 1999. Vol.29. P.87-91.
132. Ding Y., Wang J., Liu Y., Chen S. Isolation and identification of nitrogen-fixing bacilli from plant rhizospheres in Beijing region // J.Appl. Microbiol., 2005. Vol.99. P.1271-1281.
133. Döbereiner J., Day J.M., Dart P.J. Nitrogenase activity and oxygen sensibility of the *Paspalum notatum* – *Azotobacter paspali* association // J. Gen. Microbiol., 1972. Vol.7. №1. P.103-106.
134. Dubos B., Jailloux F. et al. Employing antagonistic properties of *Trichoderma* against *B. cinerea* in the protection of vineyards against grey mold // Phytopathology, 1982. V.10. P.134-137.
135. Duffy B.K., Defago G. Environmental factors modulating antibiotic and siderophore biosynthesis by *Pseudomonas fluorescens* biocontrol strains // Appl. Environ. Microbiol., 1999. Vol.65. P.2429-2438.
- 136. Duitman E.H., Hamoen L.W., Rembold M. The mycosubtilin synthetase of *Bacillus subtilis* ATCC6633: A multifunctional hybrid between a peptide synthetase, an amino transferase, and a fatty acid synthase // Genetics, 1999. Vol.96. №23. P.13294-13299.**
137. Edwards S.G., McKay T., Seddon B. Interaction of *Bacillus* species with phytopathogenic fungi – Methods of analysis and manipulation for biocontrol purposes // In: Ecology of Plant Pathogens. Ed. Blakeman J.P., Williamson B. Wallingford: CAB International, 1994. P.101-118.
138. Fenton A.M., Stephens P.M., Crowley J. et al. Exploitation of genes involved in 2,4-diacetylphloroglucinol biosynthesis to confer a new biocontrol capability to a *Pseudomonas* strain // AEM, 1992. Vol.58. P.3873-3878.
139. Folman L.B., Postma J., Van Veen J.A. Ecophysiological characterization of rhizosphere bacterial communities at different root locations and plant developmental

- stages of cucumber grown on rockwool // *Microbial Ecology*, 2001. Vol.42. P.586-597.
140. Food, Agriculture, Conservation, and Trade Act of 1990 (FACTA)// Public Law. 1990. Government Printing Office. Washington, DC. P. 101-624.
141. Frandberg E., Schirees S. Chitinolytic bacteria from airtight stored cereals and from vegetables // 5-th Int.symp.microb.ecol., 1992. P.231.
142. Frankenberger W.T., Arshad M. Phytohormones in soil: microbial production and function // New York. Marcel Dekker, 1995. 503p.
143. Germaine K., Keogh E., Garcia-Cabellos G. et al. Colonization of poplar trees by *gfp* expressing bacterial endophytes // *FEMS Microbiol. Ecol.*, 2004. Vol.48, №1. P.109-118.
144. Glick B.R. The enhancement of plant growth by free-living bacteria // *Can.J. Microbiol.*, 1995. Vol.41. P.109-117.
145. Glogowski W., Galsky A. *Agrobacterium tumefaciens* site attachment as a necessary prerequisite for crown gall tumor formation on potato discs// *Plant Physiol.* 1978. Vol. 61. №6. P. 1031–1033.
146. Gold M.V. Sustainable agriculture: Definitions and terms. 1999. Available at the USDA National Agriculture Library: [http:// www. nal. usda. gov /afsic /AFSIC_pubs/srb9902.htm](http://www.nal.usda.gov/afsic/AFSIC_pubs/srb9902.htm)
147. Grau F.H., Wilson P.W. Physiology of nitrogen-fixation by *Bacillus polymyxa* // *J. Bacteriol.*, 1962. Vol.83. P.490-496.
148. Groome P.C., Tattar T.A., Mount M.S. *Bacillus megaterium*: A possible biocontrol organism against *Cryphonectria parasitica* on American chestnut // *Phytopathology*, 1999. V.89. P.100.
149. Gyaneshwar P., James E.K., Mathan N. et al. Endophytic colonization of rice by a diazotrophic strain of *Serratia marcescens* // *J. Bacteriol.*, 2001. Vol.183. №8. P.2634-2645.
150. Haas W., Shepard B.D., Gilmore M.S. Two-component regulator of *Enterococcus faecalis* cytolysin responds to quorum-sensing autoinduction // *Nature*, 2002. Vol.415. P.84-87.
151. Hallmann J., Rodriguez-Kabana R., Kloepper J.W. Chain mediated changes in bacterial communities of the soil, rhizosphere and internal roots of cotton in relation to nematode control // *Soil Biol. Biochem.*, 1998. Vol.31. P.551-560.
152. Handelsmann J., Stabb E.V. Biocontrol of soilborne pathogens // *The plant cell.*, 1996. Vol.8. P.1855-1869.
153. Hawksworth D.L. The biodiversity of microorganisms and invertebrates: its role in sustainable agriculture // CAB International, Redwood press Ltd., Melksham, UK, 1991.302p.
154. Hofstein R., Fridlender B. Development of production, formulation and delivery systems // *Crop. prot. conf. «Pests and Diseases» nov. 21-24, 1994.* Farnham, 1994. V.3. P.1273-1280.
155. Holl F.B., Chanway C.P. Rhizosphere colonization and seedling growth promoting of lodgepole pine by *Bacillus polymyxa* // *Can.J. Microbiol.*, 1989. Vol.38. P.303-308.
156. Holl F.B., Chanway C.P., Turkington R., Radley R.A. Response of crested

- wheatgrass (*Agropyron cristatum* L.) perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) and white clover (*Trifolium repens* L.) to inoculation with *Bacillis polymyxa* // Soil Biol. Biochemistry, 1988. Vol.20. P.19-24.
157. Howell C.R., Stipanovich R.D. Control of *Rhizoctonia solani* on cotton seedlings with *Pseudomonas fluorescens* and with antibiotics produced by the bacterium // Phytopathology, 1979. Vol.69. P.480-482.
158. Htay K., Kerr A. Biological control of crown gall: seed and root inoculation// J. Appl. Bacteriol. 1974. Vol. 37.№4. P.525–530.
159. Jaeger III C.H., Lindow S.E., Miller W. et al. Mapping of sugar and amino acid availability in soil around roots with bacterial sensors of sucrose and tryptophan // Appl. Environ. Microbiol. 1999. Vol.65. №6. P.2685-2690.
160. James E.K. Nitrogen fixation in endophytic and associative symbiosis//Field Crops Res. 2000.Vol.65. №2/3. P.197-209.
161. Janisiewicz W.J. Biocontrol of postharvest diseases of apples with antagonist mixture // Phytopathology, 1988. V.78. № 2. P.194-198.
162. Janisiewicz W.J. Postharvest Biological control of blue mold on apples // Phytopathology, 1987. V.77. №3. P.481-485.
163. Janisiewicz W.J., Roitman J. Biological control of blue mold and grey mold in apple and pear with *Pseudomonas cepacia* // Phytopathology, 1988. V.78. №16. P.1697-1700.
164. Janisiewicz W.J., Wilson C.L. Natural agents fight fruit spoilage // Agricultural Research, 1990. V.4. P.15-17.
165. Jarosz J., Lipa S. Biopreparat to ochrony roslin // Pat.№167237 U6 A 01 63/00, A 01 65/00. 31.08.95.
166. Jordan D.C., McNicol P.J., Marshall M.R. Biological nitrogen fixation in the terrestrial environment of a high Arctic ecosystem (Truelove Lowland, Devon Island, N.W.T.) // Can.J. Microbiol., 1978. Vol.24. P.643-649.
167. Junge H., Krebs B., Kilian M. Strain selection, production and formulation of the biological plant vitality enhancing agent FZB24 *Bacillus subtilis*. // Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer, 1, 2000. P.94-104.
168. Katz E., Demain A.L. The peptide antibiotics of *Bacillus*: Chemistry biogenesis and possible functions // Bacteriological Review, 1977. Vol.41. P.449-474.
169. Kavimandan S.K., Gaur A.C. Effect of seed inoculation with *Pseudomonas sp.*, on phosphate uptake and yield of maize // Current Sci. 1971. Vol.40. P.439.
170. Kennedy A.C., Smith K.L. Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils // Plant and Soil, 1995. Vol.170. P.75-86.
171. Kilian M., Steiner U., Junge H., Schmiedernecht G., Hain R. FZB24 *Bacillus subtilis* – mode of action of a microbial agent enhancing plant vitality// Phlanzenschutz-Nachrichten Bayer, 2000. Vol.1. P.72-93.
172. Kloepper J.W., Leong J., Teintz M., Schroth M.N. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria // Nature, 1980. Vol.286. P.665.
173. Kloepper J.W., Scher F.M., Laliberte M., Zaleska I. Measuring the spermosphere colonizing capacity (spermosphere competence) of bacterial inoculants. // Can.J.Microbiol., 31, 1985. P.926

174. Kloepper J.W., Schroth M.N. Relationship of *in vitro* antibiosis of plant growth-promoting rhizobacteria on potato plant development and yield // *Phytopathology*, 1981. Vol.70. P.1078.
175. Kluepfel D.A. The behavior and tracking of bacteria in the rhizosphere // *Ann.Rev. Phytopathol.*, 1993. Vol.31. P.441-472.
176. Kluepfel D.A., Tonkyn D.W. Release of soil-borne genetically modified bacteria// In: «Biological Monitoring of Genetically Engineered Plants and Microbes». Ed. Henry S.C. Maryland, 1990. P.56-67.
177. Kobayashi, D.Y., Palumbo J.D. Bacterial endophytes and their effects on plants and uses in agriculture//In: «Microbial endophytes». Ed. C.W. James and J.F. White, Jr. Marcel Dekker Inc., New York, 2000. P.199-233.
178. Koumoutsi A., Chen X-H., Henne A. et al. Structural and functional characterization of gene clusters directing nonribosomal synthesis of bioactive cyclic lipopeptides in *Bacillus amyloliquefaciens* strain FZB42 // *J. Bacteriol.*, 2004. Vol.186. №4. P.1084-1096.
179. Lebbadi M., Galvez A., Maqueda M. Fungicin M4: a narrow spectrum peptide antibiotic from *Bacillus licheniformis* M-4 // *J. Appl. Bacteriol.*, 1994. Vol.77. №1. P.49-53.
180. Lebuhn M., Heulin T., Hartmann A. Production of auxin and other indolic and phenolic compounds by *Paenibacillus polymyxa* strains isolated from different proximity to plant roots // *FEMS Microb. Ecol.*, 1997. Vol.22. P.325-334.
181. Lee J.Y., Moon S.S., Hwang B.K. Isolation and antifungal and antioomycete activities of aerugine produced by *Pseudomonas fluorescens* strain MM-B16 // *Appl. Environ. Microbiol.*, 2003. Vol.69. P.2023-2031.
182. Lehri L.K., Mehrotra C.L. Effect of *Azotobacter* inoculation on the yield of vegetable crops // *Indian J. Agric. Sci.*, 1972. Vol.6. P.201.
183. Leifert C., Li H., Chidburee S. et al. Antibiotic production and biocontrol activity by *Bacillus subtilis* CL27 and *Bacillus pumilus* CL45 // *J. Appl. Bacteriol.*, 1995. Vol.78. P.97-108.
184. Lemanceau P., Corberand T., Gardan L. Effect of two plant species, flax (*Linum usitatissimum* L.) and tomato (*Lycopersicon esculantum* Mill.) on the diversity of soil-borne populations of fluorescent pseudomonads. *Applied and Environmental Microbiology*, 61, 1995. P.1004-1012.
185. Leyns F., Lambert B., Joos H., Swings J. Antifungal bacteria from different crops // *British Library Cataloguing in Publication Data*, 1990. P.437-443.
186. Liddel C.M., Parke J.L. Enhanced colonization of pea taproots by fluorescent pseudomonad biocontrol agent by water infiltration into soil // *Phytopathology*, 1989. Vol.79. P.1327-1332.
187. Lievens K.H., van Rijsbergen R., Leyns F.R., Lambert B., Tenning P., Swings J., Joos H. Dominant rhizosphere bacteria as a source for antifungal agents // *Pestic Sci.*, 1989. Vol.27. P.141-154.
188. Lim T., Rohrbach K. Role of *Penicillium funiculosum* strains in the development of pineapple fruit diseases // *Phytopathology*, 1980. V.70. P.663-665.

189. Lima A.C.F., Pizauro Junior J.M., Macari M., Malheiros E.B. Efeito do uso de probiótico sobre o desempenho e a atividade de enzimas digestivas de frangos de corte // Revista Brasileira de Zootecnia, 2003. Vol.32. P.200-207.
190. Lindberg T., Granhall U. Isolation and characterization of dinitrogen-fixing bacteria from the rhizosphere of temperate cereals and forage grasses // Appl. Environ. Microbiol., 1984. Vol.48. P.683-689.
191. Lorito M., Hayes L., Di P., Woo S., Harman G. Purification, characterization and synergistic activity of a glucan 1,3-glucosidase and an N-acetyl-glucosaminidase from *Trichoderma harzianum* // Phytopathology, 1994. V.84. №4. P.398-405.
192. Lugtenberg B.J., Simons M., Kravchenko L.V. Tomato seed and root exudates organic acids: composition, utilization by *Pseudomonas* biocontrol strains and role in rhizosphere colonization // Environ. Microbiol., 1999. Vol.1. P.9-13.
193. Lugtenberg B.J., Dekkers L.C., Bloemberg G.V. Molecular determinations of rhizosphere colonization by *Pseudomonas* // Annu. Rev. Phytopathol., 2001. Vol.39. P.461-490.
194. Lynch J.M. Soil Biotechnology - Microbiological Factors in Crop Productivity// Blackwell Scientific Publications, Oxford. London. 191p.
195. Lynch J.M. The Rhizosphere // John Wiley and Sons, Chichester, England, 1990.458p.
196. Lynch J.M., Bragg E. Microorganism and soil aggregate stability // Adv. Soil Sci., 1985. Vol.2. P.133-171.
197. Mahaffee W.F., Kloepper J.F. Temporal changes in the bacterial communities of soil, rhizosphere and endorhiza associated with field grown cucumber (*Cucumis sativus* L.), Microbial Ecology, 34, 1996. P.210-223.
198. Martin J.K. ¹⁴C labeled material leached from the rhizosphere of plants supplied with ¹⁴CO₂ // Aust.J.Biol.Sci., 1971. Vol.24. P.1131-1142.
199. Martin N.I., Haijing Hu H., Matthew M. Isolation, structural characterization, and properties of mattacin (polymyxin M), a cyclic peptide antibiotic produced by *Paenibacillus kobensis* M // J. Biol. Chem., 2003. Vol.278. №15. P.13124-13132.
200. Matteson M., Burr T., Smith C. Corrad-grey isolation, selection and screening of bacteria as potential biological control agents for *Venturia inaequalis*. // Ibit., 1994. V.8. №5. P.545.
201. Mavingui P., Heulin T. *In vitro* chitinase antifungal activity of a soil, rhizosphere and rhizoplane populations of *Bacillus polymyxa* // Soil Biol. Biochem., 1994. Vol.26. P.801-803.
202. Mavingui P., Laguerre G., Berge O., Heulin T. Genetic and phenotypic diversity of *Bacillus polymyxa* in soil and in the wheat rhizosphere // Appl. Environ. Microbiol., 1992. Vol.58. P.1894-1903.
203. McGuire K., Hagenmaler K. Storage waxes that support growth of *Candida oleophila* for biocontrol *Penicillium digitatum* on citrus // Abstr. APS Annul. meet. aug. 12-16. 1995. P.1166.
204. Milner J.L., Silo-Suh L., Lee J.C. Production of kanosamine by *Bacillus cereus* UW85 // Appl. Environ. Microbiol., 1996. Vol.62. №8. P.1267-1271.
205. Mishustin E.N., Naumova A.N. Bacterial fertilizers, their effectiveness and mode of action // Microbiology, 1962. Vol.31. P.442.

206. Mundt J.O., Hinckle N.F. Bacteria within ovules and seeds // *Appl. Environ. Microbiol.*, 1976. Vol.32. P.694-698.
207. Nair K.S., Ramaswamy P.P., Perumal R. Studies on *Azotobacter*. IV. Effect of *Azotobacter* inoculation on paddy // *Madras Agric.J.*, 1972. Vol.59. P.28.
208. National Academy of Sciences. Alternative Agriculture. Committee on the Role of Alternative Agriculture Farming Methods in Modern Production Agriculture. National Research Council, Board on Agriculture. National Academy Press, Washington, D.C., USA, 1989. P.448.
209. Neal J.L., Larson R.I. Acetylene reduction by bacteria isolated from the rhizosphere of wheat // *Soil Biol. Biochem.*, 1976. Vol.8. P.151-155.
210. Nelson A.D., Barber L.E., Tjepkema J., Russel S.A., Powelson R., Evans H.J., Siedler R.J. Nitrogen fixation associated with grasses in Oregon // *Can.J. Microbiol.*, 1976. Vol.22. P.523-530.
211. Nielsen M.N., Sorensen J., Fels J., Pedersen H.C. Secondary metabolite and endochitinase – dependent antagonism toward plant- pathogenic microfungi of *Pseudomonas fluorescens* isolates from sugar beet rhizosphere // *Appl. Environ. Microbiol.*, 1998. Vol.64. P.3563-3569.
212. Nielsen P., Sorensen J. Multi-target and medium-independent fungal antagonism by hydrolytic enzymes in *Paenibacillus polymyxa* and *Bacillus pumilus* strains from barley rhizosphere // *FEMS Microbiol. Ecol.*, 1997. Vol.22. P.183-192.
213. Nurmikko V., Soini J., Aaerimaa O. Formation of folate enzymes during the growth cycle of bacteria.3. Changes in tetrahydrofolate dehydrogenase activity during the active growth phases of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus arabinosus* // *Acta Chem. Scand.*, 1965. Vol.19. P.129-134.
214. Oehrle, N.W., Karr D.B., Kremer R.J. Enhanced attachment of *Bradyrhizobium japonicum* to soybean through reduced root colonization of internally seedborne microorganisms // *Can. J. Microbiol.*, 2000. Vol.46. P.600-606.
215. Okon Y., Labandera-Gonzalez C. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation experiments. *Soil. Biol. Biochem.*, 26, 1994. P.1591-1601.
216. Old K.M., Schippers B. Electron microscopical studies of chlamydospores of *F.s.cucurbitaceae* formed in natural soil // *Soil Biol.biochem.*, 1973. №5. P.613-620.
217. Parke J.L. Root colonization by indigenous and introduced microorganisms // In: *The rhizosphere and plant growth*. Keister D.L. and Cregan P.B. (eds.), Kluwer Academic Publishers, Boston, 1991. P.33-42.
218. Parke S. Biological inoculants effective against *Aphanomices* // *Pat.№5244768 U5 C12.№1/20*.
219. Pierson III L.S.P., Pierson E.A. Phenazine antibiotic production in *Pseudomonas aureofaciens*:role in rhizosphere ecology and pathogen suppression // *FEMS Microbiol. Letters.*, 1996. Vol.136. P.101-108.
220. Pimental D., Stachow U., Takacs D.A., Brubaker H.W., Dumas A.R., Meaney J.J., O'Neil A.S., Onsi D.E., Corzilius D.B. Conserving biological diversity in agricultural/forestry systems // *BioScience*, 1992. Vol.42. P.354-362.
221. Piuri M., Sanchez-Rivas C., Ruzal S.M. A novel antimicrobial activity of a *Paenibacillus polymyxa* strain isolated from regional fermented sausages // *Lett.*

- Appl. Microbiol., 1998. Vol.27. P.9-13.
222. Pusey P.L., Wilson C.L. Control of brown rot with a bacillus bacterium // *Phytopathology*, 1983. V.83. P.823.
223. Pusey P.L., Wilson C.L. Effect of bacterial antagonists fungal rots of fruit // *Phytopathology*, 1982. V.72. P.710.
224. Pusey P.L., Wilson C.L., et al. Compatibility of *B. subtilis* for postharvest control of peach brown rot with commercial fruit waxes, dicloran and cold-storage conditions // *Plant Disease*, 1986. V.70. №6. P.587-592.
225. Raaijmaker J.M., Van Der Sluis I., Van Den Hout M. et al. Dispersal of wild-type and genetically-modified *Pseudomonas* spp from treated seeds or soil to aerial parts of radish plants // *Soil. Biol. Biochem.*, 1995. Vol.27. №11. P.1473-1478.
226. Rennie R.J., Larson R.I. Dinitrogen fixation associated with disomic substitution lines of spring wheat // *Can. J. Bot.*, 1979. Vol.57. P.2771-2775.
227. Report and Recommendations on Organic Farming // Washington DC: USDA, 1980. P.12.
228. Rhodes D.J. Bacterial antagonist-fungal interactions on the plant aerial surface // In: *The Exploitation of Microorganisms in Applied Biology. Aspects of Applied Biology*. Warwick: Association of Applied Biologists, 1990. №24. P.145-153.
229. Ridge E.H. Inoculation and survival of *Azotobacter chroococcum* on stored wheat seed // *J. Appl. Bacteriol.*, 1970. Vol.33. P.262.
230. Ridge E.H., Rovira A.D. Microbial inoculation of wheat // *Trans. 9th Int. Cong. Soil Sci.*, 1968. Vol.33. P.262.
231. Rosado A.S., de Azevedo F.S., da Cruz D.W., van Elsas J.D., Seldin L. Phenotypic and genetic diversity of *Paenibacillus azotofixans* strains isolated from the rhizosphere or rhizoplane of different grasses // *Appl. Environ. Microbiol.*, 1998. Vol.84. P.216-226.
232. Rosado A.S., Seldin L. Production of a potentially novel antimicrobial substance by *Bacillus polymyxa* // *World J. Microbiol. Biotech.*, 1993. Vol.90. P.521-528.
233. Rovira A.D. Effects of *Azotobacter*, *Bacillus* and *Clostridium* on the growth of wheat // *Folia Microbiol. Prague*. 1965. Vol.11. P.193.
234. Rovira A.D., Davey C.B. Biology of the rhizosphere // In: «*The Plant Root and Its Environment*». Ed. Carson E.W., University Press. Virginia, 1974. P.153.
235. Ryder M.H., Yan Z., Terrace T.E. et al. Use of strains of *Bacillus* isolated in China to suppress take-all and rhizoctonia root rot, and promote seedling growth of glasshouse-grown wheat in Australian soils // *Soil. Biol. Biochem.*, 1999. Vol.31. P.19-29.
236. Sadoff H.L. Sporulation antibiotics of *Bacillus* species // In: *Spores V*. Ed. Halvorson H.O., Hanson R., Campbell L.L. Bethesda: American Society for Microbiology, 1972. P.157-166.
237. Schippers B. Prospects for management of natural suppressiveness to control soilborne pathogens // In: *Biological control of plant diseases, progress and challenges for the future*. NATO ASI Series A: Life Sciences. Tjamos E.C., Papavizas G.C., Cook R.J. (eds.). Plenum Press, New York, 1992. Vol.230. P.21-34.

238. Schisler D.A., Slininger P.J., Behle R.W. The nature and application of biocontrol microbes: *Bacillus* spp. – formulation of *Bacillus* spp. for biological control of plant diseases // *Phytopatol.*, 2004. Vol.94. P.1267-1271.

239. Schnurer S., Bjonberg A. The yeast *Hansenula anomala* inhibits the growth of grain storage moulds // 5-th Int.symp.microb.ecol., 1992. P.127.
240. Seldin L., de Azevedo F.S., Alviano D.S., Alviano C.S., Bastos M.C.F. Inhibitory activity of *Paenibacillus polymyxa* SCE2 against human pathogenic microorganisms // *Lett. Appl. Microbiol.*, 1999. Vol.28. P.423-427.
241. Seldin L., Rosado A.S., Cruz D.W., Nobrega A., van Elsas J.D., Paiva E. Comparison of *Paenibacillus azotofixans* strains isolated from rhizoplane, rhizosphere and non-rhizosphere soil from maize planted in two different Brazilian soils//*Appl. Environ. Microbiol.*, 1998. Vol.64. P.3860-3868.
242. Seldin L., van Elsas J.D., Penido E.G.C. *Bacillus azotofixans* sp.nov., a nitrogen-fixing species from brazilian soils and grass roots // *Int. J.Syst. Bacteriol.*, 1984. Vol.34. P.451-456.
243. Seldin L., van Elsas J.D., Penido E.G.C. *Bacillus* nitrogen fixers from Brazilian soils // *Plant Soil*, 1983. Vol.70. P.243-255.
244. Shishido M., Breuil C., Chanway C. Endophytic colonisation of spruce by plant growth promoting rhizobacteria // *FEMS Microbiol. Ecol.*, 1999. Vol.29. P.191-196.
245. Shishido M., Loeb B.M., Chanway C. External and internal root colonization of lodgepole pine seedlings by two growth promoting *Bacillus* strains originated from different root microsites // *Can.J. Microbiol.*, 1995. Vol.41. P.703-713.
246. Sierra S., Rodelas B., Martinez-Toledo M.V., Pozo C., Gonzalez-Lopez J. Production of B-group vitamins by two *Rhizobium* strains in chemically defined media // *J. Appl. Microbiol.*, 1999. Vol.86. P.851-858.
247. Silo-Suh L.A., Stabb E.V., Raffel S.J. et al. Biological activities of two fungistatic antibiotics produced by *Bacillus cereus* UW85 // *Appl. Environ. Microbiol.*, 1994. Vol.60. №6. P.2023-2030.
248. Smith J.L., Paul E.A. The significance of soil microbial biomass estimations in soil // In: *Soil Biochemistry*. Vol.6. Eds. J.M. Bollag and G. Stotzky. Marcel Dekker, New York, NY, 1990. P.357-396.
249. Sprent J.L. The biology of nitrogen-fixing organisms // McGraw Hill, London, 1979. P.196.
250. Strzelczyk E., Dahm H., Pachlewski R.: B-group vitamin production by mycorrhizal fungi in response to pH // *Plant and Soil*, 1991. Vol.137. P.237-241.
251. Sturz A.V., Nowak J. Endophytic communities of rhizobacteria and the strategies required to create yield enhancing associations with crops // *Appl. Soil Ecol.*, 2000. Vol.15. P. 83-190.
252. Sturz, A.V., Christie B.R., Matheson B.G. Biodiversity of endophytic bacteria which colonize red clover nodules, roots, stems and foliage and their influence on host growth // *Biol. Fertil. Soil*, 1997. V.25. P.13-19.
253. Tasca G.H., Bogoescu M. Lucr sti. inst. cerezi protect valorific si und legum.

- si. fruct, 1990. V.20. P.53-64.
254. Tien T.M., Gaskins M.H., Hubbel D.H. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.) // Appl. Environ. Microbiol., 1979. Vol.37. P.1016-1024.
255. Timmusk S., Nicander B., Granhall U., Tillberg E. Cytokinin production by *Paenibacillus polymyxa* // Soil. Biol. Biochem., 1999. Vol.31. P.847-1852.
256. Triplett E.W. Diazotrophic endophytes: prospects for nitrogen fixation in monocots // Plant and Soil, 1996. Vol.186. P.29-38.
257. Tronsmo A., Ystaas J. Biological control of *Botrytis cinerea* an apple // Plant. Dis., 1980. V.64. P.1009.
258. van Veen J.A., van Overbeek L.S., van Elsas J.D. Fate and activity of microorganisms introduced into soil // Microbiol. Mol.Biol. Rev., 1997. Vol.62. P.121-135.
259. Vesper S.J., Bauer W.D. Role of pili in attachment of *Bradyrhizobium japonicum* to soybean roots // Appl. Environ. Microbiol., 1986. Vol.52. P.134-141.
260. von der Weid I., Duarte G.F., van Elsas J.D., Seldin L. *Paenibacillus brasiliensis* sp.nov., a new nitrogen-fixing species isolated from the maize rhizosphere in Brazil // Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 2002. Vol.52. P.2147-2153.
261. von der Weid I., Edilson P., Alberto N., van Elsas J.D., Seldin L. Diversity of *Paenibacillus polymyxa* strains isolated from the rhizosphere of maize planted in Cerrado soil // Res.Microbiol., 2000. Vol.151. P.369-381.
262. Walker R., Powell A.A., Seddon B. *Bacillus* isolates from the spermosphere of peas and dwarf french beans with antifungal activity against *Botrytis cinerea* and *Pythium* species // J. Appl. Microbiol., 1998. Vol.84. P.791-801.
263. Weller D.M., Raaijmakers J.M., Gardener B.B., Thomashow L.S. Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens // Annu. Rev. Phytopathol., 2002. Vol.40. P.309-348.
264. Wellington L.A., Lima A.O.S., Macheroni L.W.Jr., Fungaro M.H.P., Andreote F.D., Souza L.A., Lacava P.T., Azevedo J.L. Biological control of plant disease by endophytic bacteria expressing a heterologous protein from *Bacillus* sp. // (http://cires.colorado.edu/env_prog/chemrawn/abstracts/Lima.html. 19.06.2001). 2001.
265. Wilson C.L., Franklin J.D. Fruit volatiles inhibitory to *Monilia fructicola* and *B. cinerea* // Plant. Disease, 1986. V.71. №4. P.316-321.
266. Wilson C.L., Franklin J.D., et al. Biological control of *Rhizopus* rot of peach with *Enterobacter cloacae* // Phytopathology, 1987. V.77. №2. P.303-308.
267. Wilson K.J., Peoples M.B., Jefferson R.A. New techniques for studying competition by rhizobia and for assessing nitrogen fixation in the field // Plant Soil, 1995. Vol.174. P.241-253.
268. Wilson M., Lindow S.E. Release of recombinant microorganisms. Annu. Rev. Microbiol., 1993. Vol.47. P.1041-1047.
269. Witz D.B., Detroy R.W., Wilson P.W. Nitrogen fixation by growing cells and cell-free extracts of the *Bacillaciae* // Arch. Microbiol., 1967. Vol.55. №4. P.369-381.

270. Zhang X.J., Miao W.G., Zhu G.N., Wang J.S. Screening of bacterial antagonists against several important crop disease pathogens // Chinese Journal of Biological Control, 1993. Vol.9. P.126-129.
271. Zhu T., Pan Z., Domagalski N. Engineering of *Bacillus subtilis* for enhanced total synthesis of folic acid // Appl. Environ. Microbiol., 2005. Vol.71. №11. P.7122-7129.

Научное издание

Владимир Кузьмич Чеботарь
Алексей Анатольевич Завалин
Елена Ивановна Кипрушкина

Эффективность
применения биопрепарата
ЭКСТРАСОЛ

Издание осуществлено в авторской редакции

ISBN

Лицензия на издательскую деятельность ЛП 040919 от 07.10.98
Лицензия на полиграфическую деятельность ПЛД № 53-468 от 13.08.99
127550, Москва, ул. Прянишникова, 31а
Подписано в печать 25 декабря 2006 г. Формат 60x84x16
Печ. листов Усл. печ.листов Тираж 1000
Заказ

Типография Россельхозакадемии
Москва, ул. Ягодная, 12