

БАКТЕРИАЛЬНЫЙ КОНСОРЦИУМ НА ОСНОВЕ РИЗОСФЕРНЫХ БАКТЕРИЙ
ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ

Ш. З. Валидов, Э. Н. Комиссаров

Реферат. Исследования проводили с целью определения защитного эффекта, который демонстрирует консорциум бактерий, выделенных из ризосферы ячменя, против корневых гнилей. Работу выполняли на модельной системе в лаборатории и на растениях ячменя в полевых условиях. В лабораторных условиях консорциум был проверен на отсутствие фитотоксичности в отношении растений ярового ячменя и на способность сдерживать развитие корневых гнилей на модельной системе томат-*Fusarium oxysporum*, где было продемонстрировано снижение развития заболевания на 31%, по сравнению с контролем. Полевые испытания выполняли в 2023–2024 года в Республике Татарстан. Почва – серая лесная тяжелосуглинистая. Для полевых испытаний консорциума семена ячменя сорта Камашевский обрабатывали в день посева в норме 4 л/т суспензией спор гриба в концентрации 10^4 КОЕ/мл. Корневые гнили отмечали как в контроле, так и в опытном варианте – развитие заболевания в 2023 году достигало 17,1% и 9% соответственно, в 2024 году – 12,6% и 7%. Несмотря на влияние на корневые гнили, различия между величинами биометрических показателей были статистически незначимыми. Урожайность в 2023 году в контрольном варианте составляла 41,5 ц/га, в опытном она была достоверно выше на 7,9 ц/га (НСР₀₅ – 6,3 ц/га). В 2024 году существенных различий между опытным и контрольным вариантами не наблюдали, урожайность составляла 43,0...44,5 ц/га с меньшей величиной этого показателя в контроле. Таким образом, консорциум бактерий из ризосферы ярового ячменя способен сдерживать развитие корневых гнилей, не оказывая токсического влияния на растения.

Ключевые слова: ячмень, корневые гнили, фитотоксичность, консорциум микроорганизмов, защита растений.

Введение. Альтернативу химической обработки для культурных растений, основной запас фитопатогенной микрофлоры которых находится на семенах и в почве, давно пытаются реализовать с помощью бактериальных штаммов, активно колонизирующих растительные ткани или их поверхности и способных ограничивать развитие в этой нише фитопатогенов, в частности корневых гнилей и возбудителей пятнистостей ячменя [1, 2]. При этом такие штаммы не должны оказывать фитотоксическое влияние при инокуляции семян сельскохозяйственных культур [3]. Следует отметить, что совместное применение группы штаммов, в отличие от единичных их видов, будет формировать более устойчивое сообщество микроорганизмов, способное укрепиться в ризосфере, удерживая доминантное положение, оказывая большее влияние при защите культурных растений [4, 5].

Одна из проблем использования биологических препаратов, как на основе консорциума бактерий, так и с единственным биологическим агентом, связана с необходимостью создания условий для хранения препаратов и поиском способов их применения в полевых условиях, которые способствовали бы поддержанию эффективности на уровне, наблюдаемом в лабораторных условиях [6, 7, 8].

В исследованиях по испытанию консорциумов фосфатмобилизующих и diaзотрофных бактерий в полевых условиях на пшенице, в рамках которых рассматривали защитный эффект от листовых пятнистостей, вызванных септориозом, и влияние на прорастание семян, был показан синергетический эффект их штаммов [9, 10].

Цель исследования – установить влияние

консорциума бактерий, выделенных из ризосферы ячменя, на корневые гнили на модельной системе в лаборатории и на растениях в полевых условиях.

Условия, материалы и методы. Отбор образцов ярового ячменя сорта Камашевский проводили на опытных полях Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр РАН», расположенных в Лаишевском районе Республики Татарстан летом 2022 года. После сбора ризосферной почвы с корнями ячменя в 50 мл пробирки их заливали фосфатным буфером (PBS) для получения клеточной суспензии. После серии ее разведений образцы высевали на питательную среду Кинга В (пептон – 10 г/л, глицерин – 10 г/л, K_2HPO_4 – 1,5 г/л, $MgSO_4$ – 1,5 г/л, агар микробиологический – 20 г/л) в чашки Петри, которые далее инкубировали при 30°C в течение 36 ч. Отобранные 150 чистых культур бактерий закладывали на хранение в глицериновый раствор (25%) при температуре -80°C для дальнейшего анализа.

Способность бактерий к подвижности определяли по диаметру распространения штамма от места внесения клеточной суспензии в полужидкий агар Luria-Bertani (LB) (триптон – 10 г/л, NaCl – 10 г/л, дрожжевой экстракт – 5 г/л, $MgSO_4$ – 1,5 г/л, агар микробиологический – 4 г/л).

Антагонистическую активность выделенных бактерий проверяли по отношению к *Fusarium oxysporum*. Для этого на среду potato dextrose agar (PDA) (картофельный отвар – 1 л, декстроза – 20 г/л, агар – 20 г/л) вносили 3 мкл суспензии выделенных штаммов и 3 мкл суспензии спор *F. oxysporum*. Чашки Петри со средой инкубировали при 30°C в течение

5 дней. Антагонистическую активность оценивали по величине зоны подавления роста гриба.

Штаммы, проявляющие необходимые свойства в тестах на подвижность и антагонизм, проверяли на способность расти совместно, не подавляя взаимное развитие для составления консорциума. Тест проводили путём нанесения испытуемых штаммов перпендикулярно один другому на средах KingB, PDA, LB. Несовместимость исследуемых штаммов определяли по зонам подавления в местах их соприкосновения. С использованием этого теста был составлен консорциум из 4-х совместимых штаммов.

ДНК из штаммов бактерий, составляющих консорциум, выделяли по стандартному протоколу фенол-хлороформной экстракцией [11]. Реакционная смесь ПЦР объёмом 50 мкл содержала 5 мкл 10× PCR Taqbuffer, 1 мкл смесь dNTP, по 0,5 мкл праймеров 27F (5'-gagtttgatcctggctcag-3') и 1492R (5'-tacctgttacgactt-3'), 1 мкл ДНК матрицы (100 нг), 0,5 мкл Taq ДНК полимеразы, остаток – свободная от нуклеаз вода. Амплификацию проводили в T100 thermocycler (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) при следующих параметрах: денатурация при 95°C 2 мин; 34 цикла при 95°C по 30 с и 58°C по 30 с; и 72°C в течение 1 мин 30 с. Последний цикл проводили при 72°C в течение 5 мин. Фрагменты ДНК детектировали в 1,5%-ном электрофорезном агарозном геле и визуализировали на Gel Doc EZ Imager with Image Lab 6.0 software (Bio-Rad, Hercules, CA, USA). Для очистки фрагментов ДНК из геля использовали коммерческий набор Cleanup Standard (Евроген). Очищенные фрагменты 16S ДНК секвенировали методом Сэнгера (Евроген) для видовой идентификации штаммов.

Биоконтроль проводили на модельной системе томат – *F. oxysporum*. Суспензию спор гриба разводили раствором plant nutrient solution до концентрации 10⁴ КОЕ/мл и пропитывали минеральную вату, которую

использовали в качестве субстрата. Семена томатов сорта Белый налив замачивали в суспензии клеток, входящих в консорциум (АЯ53, АЯ146, КЯ2, КЯ9), в соотношении 1:1:1:1. Растения размещали в климатикамере (ООО «Фитотрон») на 14 суток при дневной температуре 25°C, ночной – 21°C и влажности воздуха 70%. После этого оценивали индекс развития корневых гнилей (Disease Index, DI) по шкале, где 0 – здоровые растения; 1 – бурые штрихи на основании стебля или его подземной части, отдельные участки бурого цвета (зоны некроза) на первичных и вторичных корнях; 2 – слегка бурое основание стебля, бурые отдельные корни или значительные их участки, отмирание кончиков корней; 3 – темное с перехватом основание стебля или его подземной части, большая часть корней поражена или отмерла; 4 – стебель перегнивает и переламывается, начало отмирания растений.

Для выявления фитотоксичности семена ячменя сорта Камашевский инокулировали консорциумом, как и в опыте с биоконтролем, семена высушивали, высевали в грунт и помещали в климатикамеру (Фитотрон) при дневной температуре 25°C, ночной – 21°C, влажности воздуха 70%. Через 14 суток определяли всхожесть, длину корней и надземной части растений.

Полевые испытания проводили на базе Татарского научно-исследовательского института сельского хозяйства. Почва – серая лесная, по гранулометрическому составу тяжело-суглинистая со следующими агрохимическими характеристиками: содержание гумуса – 3,83%, N_г – 93,3 мг/кг (по Тюрину), P₂O₅ и K₂O (по Мачигину) – соответственно 330 мг/кг и 211,7 мг/кг, pH_{сол} – 6,1.

Отклонения температур от средних многолетних значений за вегетационные периоды 2023–2024 года не превышали 3°C. По количеству осадков 2024 год оказался более увлажнённым, как по отношению к средним многолетним значениям, так и к 2023 году, который был более засушливым и характеризовался очень сухим июнем (рис. 1).

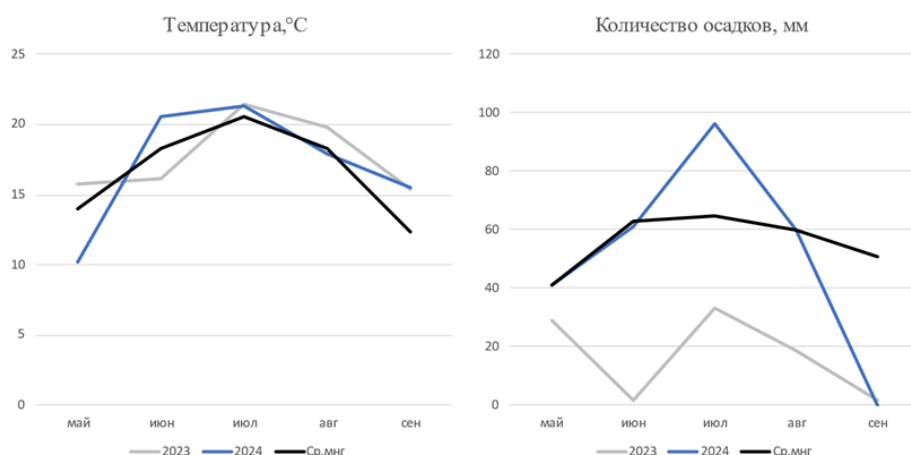


Рис. 1 - Температурный режим и количество осадков в период вегетации ячменя

Для полевых испытаний изучаемого консорциума микроорганизмов семена ячменя сорта Камашевский обрабатывали в день посева в норме 4 л/т суспензией спор гриба в концентрации 10^4 КОЕ/мл. Контрольный вариант обрабатывали водой с такой же нормой расхода. Во время уборки отбирали снопы с 1 м^2 в 3 повторностях.

Учёт поражения ячменя корневыми гнилями проводили однократно в двух повторностях в межфазный период полные всходы – начало кущения культуры. Для этого в 5 точках отбирали по 10 растений подряд. Всего 100 растений в каждом варианте. Полученные показатели сравнивали с контролем.

Развитие корневых гнилей определяли по 4-х балльной шкале [12], где: 0 – отсутствие признаков болезни; 1 балл – слабое побурение coleoptiles, гипокотили и корней; 2 балла – сильное побурение гипокотили с точечными некрозами, переходящие на узел кущения и основание стебля, угнетение развития продуктивных стеблей; 3 балла – сильное побурение гипокотили с обширными некрозами (трухлявость), побурение узла кущения и основания стебля, резкое снижение продуктивности; 4 балла – гибель или пустоколосость растений. Развитие болезни выражали в процентах, его расчет проводили по формуле:

$$R = \frac{(\sum a \times b) \times 100}{N \times K},$$

где R – развитие болезни, %; N – общее количество больных и здоровых растений (стеблей, листьев, плодов) в пробе, шт.; $\sum a \times b$ – сумма произведений числа больных растений (a) на соответствующий им балл поражения (b), штук $\times$ балл; K – высший балл учетной шкалы (K=4).

В ходе полевой оценки учитывали высоту стебля, длину корневой системы одного растения, коэффициент кущения, масса стеблей, масса колосьев, масса зёрен, масса 1000 семян.

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием пакета статистических программ OriginLab pro SR1 b9.5.1.195. Достоверную разницу между группами анализировали с использованием одностороннего ANOVA и апостериорного теста Тьюки при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Из 150 выделенных штаммов бактерий подвижность (рис. 2А) проявляли 4 изолята (КЯ1, КЯ2, КЯ9, КЯ10), а антагонизм по отношению к *F. oxysporum* (рис. 2Б) – 6 штаммов (АЯ53, АЯ73, АЯ74, АЯ114, АЯ130, АЯ146), которые были отобраны в качестве кандидатов на составление консорциума. Поскольку штаммы, обладавшие антагонистической активностью, не проявляли подвижности на чашечных тестах, а штаммы бактерий, обладающие подвижностью, не проявляли антагонизма к *F. oxysporum* консорциум составляли из двух подвижных штаммов и двух штаммов, проявляющих антагонизм.

Тест на совместимость (рис. 2В) проводили для всех штаммов, проявляющих свойства подвижности и антагонизма к *F. oxysporum*. Единственная комбинация, в которой не наблюдали взаимного подавления, состояла из штаммов АЯ53, АЯ146, КЯ2, КЯ9, которые вошли в испытуемый консорциум.

По результатам секвенирования 16S ДНК изолят АЯ53 отнесен к виду *Paenibacillus pabuli*, АЯ146 – *Bacillus pumilus*, КЯ2 – *Pseudomonas koreensis*, КЯ9 – *Pseudomonas frederiksbergensis*.

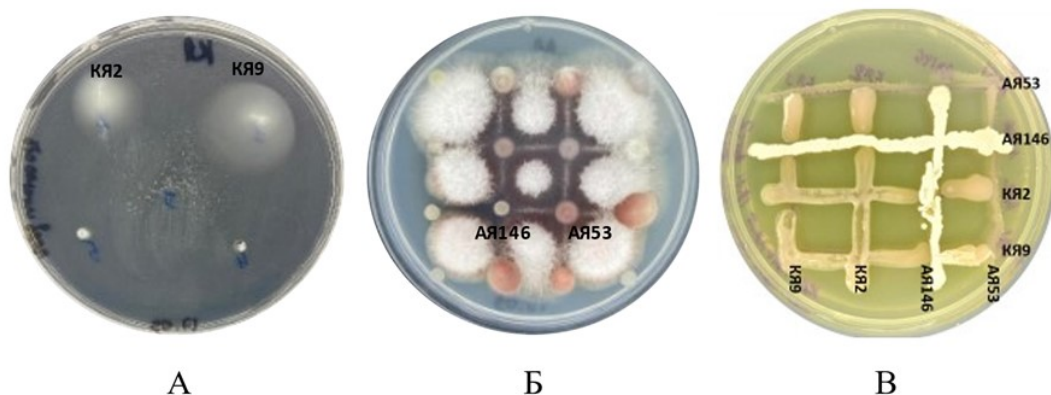


Рис. 2 – Тесты штаммов консорциума на подвижность (А), антагонизм (Б), совместимость (В)

При испытании консорциума на способность сдерживать развитие корневой гнили томатов в контрольном варианте без патогена и изучаемых микроорганизмов все растения на момент учёта были здоровы (рис. 3а). В варианте со спорами *F. oxysporum* все растения к этому времени

были поражены, в том числе 19 из них погибли (D14), а остальные проявляли признаки, предшествующие гибели растений (D13). При внесении вместе со спорами *F. oxysporum* консорциума микроорганизма, несмотря на отсутствие полностью здоровых побегов, только у 4 растений отмечен индекс развития

корневых гнилей DI4, у 32 растений наблюдали только начальные симптомы заболевания (DI1, DI2). Развитие заболевания на

инфекционном фоне составляло 85%, а в варианте с консорциумом микроорганизмов оно было на 31% меньше.

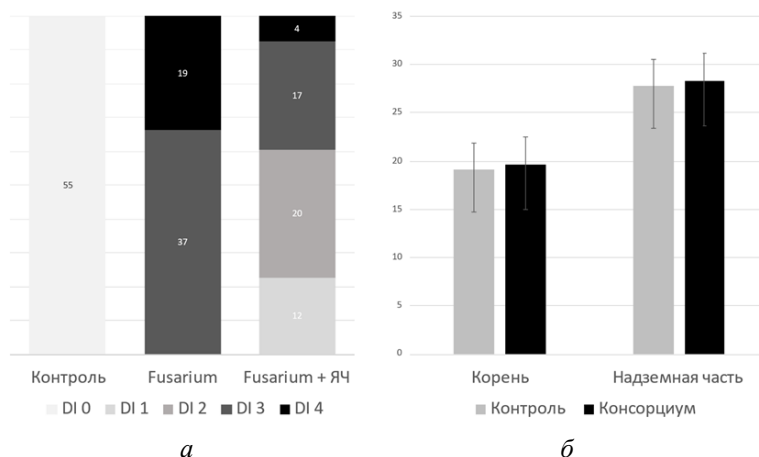


Рис. 3 – Индекс развития корневых гнилей (DI) на томатах (а, цифрами указано число растений с соответствующим индексом развития) и длина корневой системы и надземной частей ячменя (б, см)

Исследуемый консорциум микроорганизмов не оказывал влияния на рост надземной и подземной частей ячменя (рис. 3б), то есть фитотоксический эффект отсутствовал. В полевых условиях корневые гнили были отмечены в

обоих вариантах (рис. 4). При этом развитие заболевания в фазе начала кущения в 2023 году в контроле было выше, чем в экспериментальном варианте, на 8,1% (НСР₀₅ 2,3%) в 2024 году – на 5,6% (НСР₀₅ – 5%).

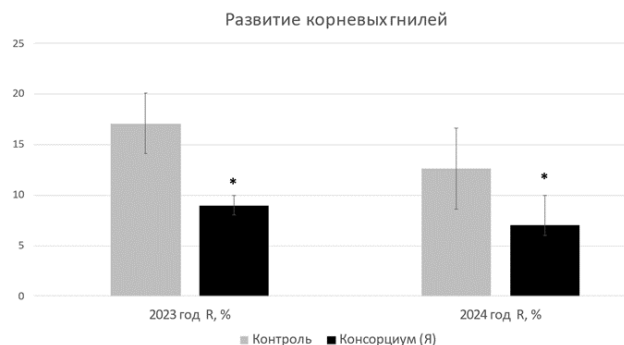


Рис. 4 – Развитие корневых гнилей на яровом ячмене

*различия с контролем достоверны при $p < 0,05$), %

Несмотря на влияние на корневые гнили, при уборке различий между контрольным и опытными вариантами по числу растений, стеблей и колосьев с 1 м², а также по параметрам длины колосьев и стеблей были статистически незначимы (см. табл.). Существенные

различия отмечали только по массе стеблей и урожайности в 2023 году. В контроле величины этих показателей были равны соответственно 300 г/м² и 41,5 ц/га, а в опытном варианте – выше на 85,8 г/м² (НСР₀₅ – 82 г/м²) и 7,9 ц/га (НСР₀₅ – 6,3 ц/га).

Таблица – Биометрические показатели ярового ячменя при обработке консорциумом бактерий

Признак	Контроль		Консорциум	
	2023 год	2024 год	2023 год	2024 год
Число растений, шт./м ²	500	520	489	505
Число стеблей, шт./м ²	661	680	733	700
Число колосьев, шт./м ²	641	630	705	652
Длина колоса, см	4,9	5,0	5,3	5,1
Длина стебля, см	52	53	55	53
Масса стеблей, г/м ²	300	340	385*	345
Урожайность, ц/га	41,5	43	49,4*	44,5

*различия с контролем достоверны при $p < 0,05$

Результаты исследований демонстрируют неоднозначное поведение изученного консорциума микроорганизмов в полевых опытах. Он способен подавлять развитие корневых гнилей, однако согласно результатам анализа других биометрических показателей не подтверждено влияние этого эффекта на развитие растений ячменя на естественном инфекционном фоне. Можно предположить, что эффект, оказываемый бактериальным консорциумом, был непродолжительным. Корневая зона могла быть замещена прежней микрофлорой, которая подавила развитие внесённых бактерий на более поздних стадиях развития ячменя. Кроме того, по всей видимости, корневые гнили развивались недостаточно интенсивно, чтобы удалось увидеть эффект от снижения развития заболевания в оба года.

Выводы. Консорциум бактерий, выделенных из ризосферы ячменя, способен достоверно сдерживать развитие корневых

гнилей как в лабораторных условиях у томатов (на 31%), так и в полевых условиях у ячменя (на 5,6...8,1%). При этом он не оказывает фитотоксического влияния на растения ячменя.

В 2023 году урожайность в варианте с обработкой семян ячменя сконструированным консорциумом превышала контроль на 7,9 ц/га при НСР₀₅ – 6,3 ц/га. 2024 году значимых изменений биометрических показателей развития растений не регистрировали. Таким образом, поведение рассматриваемого консорциума микроорганизмов в полевых условиях не было однозначным. Хотя он может замедлять развитие корневых гнилей, однако этот эффект не оказывает влияния на развития самих растений ячменя в условиях естественного инфекционного фона.

Сведение об источнике финансирования. Работа выполнена в рамках Государственного задания №124050300050-4.

Литература

1. Baturo A. Effect of thermotherapy, grain treatment and leaf spraying with biological control agents on spring barley (*Hordeum vulgare*) health in organic system // *Phytopathol. Pol.* 2006. Vol. 41. P. 15–26.
2. Рябцева Н. А. Отзывчивость ячменя на биопрепараты // *Аграрная наука.* 2021. Т. 344. №. 5. С. 51–55. doi: 10.32634/0869-8155-2021-349-5-51-55.
3. Влияние лабораторных образцов биопрепаратов на основе перспективных штаммов антагонистов фитопатогенов на проростки сои / Л. В. Маслиенко, Д. А. Курилова, Е. Ю. Шипиевская и др. // *Масличные культуры.* 2010. №. 1 (142-143). С. 104–108.
4. Evaluation of the effectiveness of a consortium of three plant-growth promoting rhizobacteria for biocontrol of cotton Verticillium wilt / W. Yang, L. Zheng, H. X. Liu, et al. // *Biocontrol science and technology.* 2014. Vol. 24. No. 5. P. 489–502. doi: 10.1080/09583157.2013.873389.
5. Исследование потенциала естественной микробиоты яровой мягкой пшеницы в повышении урожайности / Л.К. Асякина, G. Mudgal, С.Л. Тихонов и др. // *Достижения науки и техники АПК.* 2023. Т. 37. № 11. С. 12-17
6. Microbial consortium of biological products: do they have a future? / P. S. Nunes, G. V. L. Junior, G. M. Mascarin, et al // *Biological Control.* 2024. Article 105439. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S104996442400001X> (дата обращения: 15.08.2024). doi: 10.1016/j.biocontrol.2024.105439.
7. Lactic acid bacteria as potential biocontrol agents for Fusarium head blight disease of spring barley / M. B. Byrne, G. Thapa, F. M. Doohan, et al. // *Frontiers in Microbiology.* 2022. Vol. 13. Article 912632. URL: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2022.912632/full>. (дата обращения: 05.09.2024). doi: 10.3389/fmicb.2022.912632
8. Подбор прилипателей для совместного применения с лабораторным образцом биопрепарата в сельском хозяйстве / А.И. Хомяк, Н.А. Жевнова, В.В. Аллахвердян и др. // *Достижения науки и техники АПК.* 2023. Т. 37. № 8. С. 53-58.
9. Кошпаева Т. В., Миникаев Д. Т., Дегтярева И. А. Эффективность действия штаммов бактерий, аборигенных для почв татарстана, и биопрепарата азолен при биотестировании на яровой пшенице // *Агрохимический вестник.* 2021. № 6. С. 73–77.
10. Бактерии рода *Bacillus* в регуляции устойчивости пшеницы к *Septoria nodorum* Berk / Г. Ф. Бурханова, С. В. Веселова, А. В. Сорокань и др. // *Прикладная биохимия и микробиология.* 2017. Т. 53. № 3. С. 308–315.
11. Green M. R., Sambrook J. Isolation of high-molecular-weight DNA using organic solvents // *Cold Spring Harbor Protocols.* 2017. No. 4. P. 356–359. doi: 10.1101/pdb.prot093450.
12. Фитосанитарная экспертиза зерновых культур (болезни растений): рекомендации / С. С. Санин, В. И. Черкашин, Л. Н. Назарова и др. М.: ФГНУ «Росинформагротех». 2002. С. 133–156.

Сведения об авторах:

Валидов Шамиль Завдатович – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией молекулярно-генетических и микробиологических методов, e-mail: sh.validov@knc.ru

Комиссаров Эрнест Наилевич – младший научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических и микробиологических методов, e-mail: e.komissarov@knc.ru

Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр РАН», Казань, Россия

BACTERIAL CONSORTIUM BASED ON RHIZOSPHERE BACTERIA OF SPRING BARLEY

Sh. Z. Validov, E. N. Komissarov

Abstract. The studies were conducted to determine the protective effect demonstrated by a consortium of bacteria, isolated from barley rhizosphere, against root rot. The work was carried out on a model system in the laboratory and on barley plants in the field. Under laboratory conditions, the consortium was tested for the absence of phytotoxicity towards spring barley plants and for the ability to inhibit the development of root rot on a tomato-Fusarium oxysporum model system, where 31% decrease in disease development was demonstrated, compared to the control. Field experiments were conducted in 2023-2024 in the Republic of Tatarstan. The soil is gray forest heavy loam. For field experiments of the con-

sortium, Kamashevskiy barley seeds were treated with a fungal spore suspension at a concentration of 104 CFU/ml at a rate of 4 l/t on the day of sowing. Root rot was observed both in the control and in the experimental variant - the development of disease in 2023 reached 17.1% and 9%, respectively, in 2024 - 12.6% and 7%. Despite the effect on root rot, the differences between the values of biometric indicators were statistically insignificant. The productivity in 2023 in the control variant was 41.5 c/ha, in the experimental it was significantly higher by 7.9 c/ha (HSR005 - 6.3 c/ha). In 2024 there were no significant differences between experimental and control variants, the yield was 43.0...44.5 c/ha with a lower value of this indicator in the control. Thus, the consortium of bacteria from the rhizosphere of spring barley is able to restrain the development of root rot without having a toxic effect on plants.

Key words: barley, root rot, phytotoxicity, consortium of microorganisms, plant protection.

References

1. Batur A. Effect of thermotherapy, grain treatment and leaf spraying with biological control agents on spring barley (*Hordeum vulgare*) health in organic system. *Phytopathol. Pol.* 2006; Vol.41. 15-26 p.
2. Ryabtseva NA. [Barley responsiveness to biopreparations]. *Agrarnaya nauka.* 2021; Vol.344. 5. 51-55 p. doi: 10.32634/0869-8155-2021-349-5-51-55.
3. Maslienko LV, Kurilova DA, Shipievskaya EYu. [Effect of laboratory samples of biopreparations based on promising strains of phytopathogen antagonists on soybean seedlings]. *Maslichnue kultury.* 2010; 1 (142-143). 104-108 p.
4. Yang W, Zheng L, Liu HX. Evaluation of the effectiveness of a consortium of three plant-growth promoting rhizobacteria for biocontrol of cotton Verticillium wilt. *Biocontrol science and technology.* 2014; Vol.24. 5. 489-502 p. doi: 10.1080/09583157.2013.873389.
5. Asyakina LK, Mudgal G, Tikhonov SL. [Study of the potential of natural microbiota of spring soft wheat in increasing crop yields]. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK.* 2023; Vol.37. 11. 12-17 p.
6. Nunes PS, Junior GVL, Mascarin GM. Microbial consortium of biological products: do they have a future? [Internet]. *Biological Control.* 2024; Article 105439. [cited 2024, August 15]. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S104996442400001X>. doi: 10.1016/j.biocontrol.2024.105439.
7. Byrne MB, Thapa G, Doohan FM. Lactic acid bacteria as potential biocontrol agents for Fusarium head blight disease of spring barley. [Internet]. *Frontiers in Microbiology.* 2022; Vol.13. Article 912632. [cited 2024, September 05]. Available from: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2022.912632/full>. doi: 10.3389/fmicb.2022.912632
8. Khomyak AI, Zhevnova NA, Allakhverdyan VV. [Selection of adhesives for joint use with a laboratory sample of a biological product in agriculture]. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK.* 2023; Vol.37. 8. 53-58 p.
9. Koshpaeva TV, Minikaev DT, Degtyareva IA. [Efficiency of bacterial strains native to Tatarstan soils and Azolen biopreparation in biotesting on spring wheat]. *Agrokhimicheskiy vestnik.* 2021; 6. 73-77 p.
10. Burkhanova GF, Veselova SV, Sorokan AV. [Bacillus bacteria in the regulation of wheat resistance to Septoria nodorum Berk]. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya.* 2017; Vol.53. 3. 308-315 p.
11. Green MR, Sambrook J. Isolation of high-molecular-weight DNA using organic solvents. *Cold Spring Harbor Protocols.* 2017; 4. 356-359 p. doi: 10.1101/pdb.prot093450.
12. Sanin SS, Cherkashin VI, Nazarova LN. *Fitosanitarnaya ekspertiza zernovykh kultur (bolezni rasteniy): rekomendatsii.* [Phytosanitary examination of grain crops (plant diseases): recommendations]. Moscow: FGNU "Rosinformagrotekh". 2002; 133-156 p.

Authors:

Validov Shamil Zavdatovich – Ph.D. in Biology, Head of the Laboratory of Molecular-Genetic and Microbiological Methods, e-mail: sh.validov@knc.ru
 Komissarov Ernest Nailevich – junior researcher, Laboratory of Molecular-Genetic and Microbiological Methods, e-mail: e.komissarov@knc.ru
 Federal Research Center "Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences", Kazan, Russia.