

ОЦЕНКА РАЗЛИЧНЫХ СОРТОВ ЯЧМЕНЯ ПО ЭНДОФИТНОЙ МИКРОФЛОРЕ СЕМЯН

Д.С. Афанасьева, А.А. Абрамова, П.А. Дмитриева,
Д.Р. Сафина, Е.Н. Чупина, А.И. Ярмиева, Р.И. Сафин

Реферат. Эндофитные микроорганизмы, в том числе бактерии, относятся к числу наиболее перспективных биологических агентов для создания новых средств биологической защиты растений. Среди микроорганизмов этих групп особый интерес представляют эндофитные бактерии семян. В качестве объектов исследований выступали 30 сортов ярового ячменя отечественной и зарубежной селекции. Все сорта выращивались в одинаковых условиях. Целью исследований было изучение эндофитной микрофлоры семян различных генотипов (сортов) ярового ячменя. При этом проводили выделение бактерий из семян без размола (внешние эндофиты) и с размолем (внутренние эндофиты). Оценивали общее количество выделенных бактерий в расчете на одно семя и на 1 г массы семян, а также определяли их активность в отношении фитопатогенных грибов рода *Fusarium*. Установлены различия между сортами ярового ячменя по количеству эндофитных бактерий, выделенных как с поверхности (пленок), так и непосредственно из семян. У ряда сортов (Эйфель, Аккордин, Сортаник, Лидар и Поволжский-49) эндофитных бактерий при размоле семенного материала (внутренние эндофиты) не наблюдали, тогда как из целых семян (внешние эндофиты) их выделяли. В целом, из семян ярового ячменя различных сортов, было выделено 104 изолята, которые различались по морфологическим признакам колоний на питательных средах. При этом у 11 из 104 изолятов наблюдали активность в отношении подавления развития фитопатогенного гриба *Fusarium oxysporum*. Наиболее сильно этот эффект проявился у бактерии, выделенной из семян сорта ячменя Реванш немецкой селекции. Установленные сортовые отличия между генотипами ярового ячменя по численности эндофитных микроорганизмов с учетом их тесной связи с растением-хозяином могут быть использованы как при селекционной оценке различных генотипов культуры, так и при выделении перспективных биоагентов для создания новых биопрепаратов.

Ключевые слова: яровой ячмень, сорта, семена, эндофитные микроорганизмы, эндофитные бактерии.

Введение. Среди потенциальных биологических агентов с целью создания эффективных биопрепаратов для защиты растений особое внимание привлекают эндофитные микроорганизмы – бактерии [1, 2] и микромицеты [3]. По современной классификации под эндофитными понимаются бактерии, которые выделяются из поверхности стерилизованного тканей растений и не вызывают заметного ущерба растению-хозяину [4]. Микроорганизмы используют эндосферу растений как уникальную экологическую нишу, которая обеспечивает, наряду с постоянным поступлением питательных веществ, достаточно эффективную защиту от воздействия внешних экологических факторов. При этом ряд эндофитных бактерий часть своего цикла развития проходят не только в растениях, но и в почве [5].

Эндофитные бактерии изолировали как из подземных, так и из надземных частей растений [6]. Они заселяют корни, стебли, листья, семена, плоды, вегетативные органы размножения (клубни), яйцеклетки, клубеньки, но наибольшее число таких микроорганизмов отмечается в корневой системе [7].

При изучении эндофитных бактерий особое внимание уделяют вопросам их проникновения и последующего распространения в растительном организме. Часть из них (наиболее многочисленная), может рассматриваться как одна из специализированных групп ризосферных бактерий, которые могут проникать в растения через корневую систему и развиваться в ней. При этом происходят процессы распознавания эндофитными микроорганизмами спе-

цифических веществ, выделяемых корневыми системами хозяина, а также взаимодействие между растением и эндофитом на генетическом уровне (в отличие от ризосферных бактерий) [8].

Роль эндофитных бактерий в жизни растений достаточно многогранна. В частности, они могут приносить пользу своему хозяину как напрямую (улучшая усвоение питательных веществ из почвы; синтезируя и стимулируя образования фитогормонов роста, различных антистрессовых веществ и др.), так и косвенно (обеспечивая защиту от вредителей и патогенов, а также образуя вещества для воздействия на растения-конкуренты). Для того чтобы растения в свою очередь обеспечивали эндофитов необходимыми ресурсами в условиях сильной конкуренции в этой экологической нише (эндосфере) у бактерий должен иметься набор признаков колонизации, на эффективность которой влияют различные факторы, связанные с самими бактериями, особенностями растения-хозяина и окружающей средой [9].

Изучение бактериальных эндофитов семян имеет важное как практическое, так и теоретическое значение. Известно, что некоторые из этих бактерий передаются вертикально от родителей к потомству, то есть играют роль дополнительного набора генов для своего хозяина при семенном размножении [10]. В ряде исследований показана высокая перспективность эндофитов семян в качестве основы при создании биопрепаратов для растениеводства [11, 12]. Однако сравнительно мало информации об их экологическом значении для растений [13]. Показана высокая значимость бакте-

риальных эндофитов семян при освоении растениями новых территорий с засушливыми условиями [14, 15]. Значительно большее количество исследований продемонстрировали важную роль эндофитов семян в защите растений от фитопатогенов [16,17]. Так, бактерии *Bacillus* spp. продуцируют противогрибковые липопептиды, включая итурины, фенгицины, сурфактины и бацилломицин [18,19]. Однако наиболее сильное влияние эндофиты оказывают на рост и адаптивную способность растений, начиная от прорастания семян и заканчивая формированием проростков, причем такое эффект сохраняется и на более поздних стадиях. Установлено, что они ускоряют процессы прорастания [20] и роста растений путем производства ауксина, этилена, мобилизации различных питательных веществ (N, P, K и др.) и синтеза сидерофоров [21]. Эндофитные бактерии этого типа воздействуют на жизнеспособность семян, их всхожесть и выживаемость проростков [22]. В целом, семенные эндофитные бактерии обладают большим агропромышленным потенциалом, поскольку отличаются от других микробных агентов устойчивостью, конкурентоспособностью, эффективностью и вертикальной передачей [22]. Вместе с тем, в литературе мало материалов по оценке влияния сортовых особенностей культурных растений на развитие эндофитных бактерий семян.

В связи с изложенным, цель исследований – изучение особенностей заселения семян различных сортов ярового ячменя, выращиваемых в одинаковых экологических условиях, эндофитными бактериями.

Условия, материалы и методы. Для проведения исследований использовали семена, включенных в Государственный реестр (районированных) и перспективных сортов ярового ячменя, полученные из Арского сортоучастка филиала ФГБУ «Госсорткомиссия» по РТ в 2021 г. (сильно-засушливый вегетационный период). Исследования проводили на следующих сортах отечественной и зарубежной селекции: российские – Нургуш, ЯИК (ФГБНУ «Челябинский НИИСХ»), Рафаэль, Финист (ФИЦ «Немчиновка»), Орда, Памяти Чепелева (Уральский НИИСХ - филиала ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН), Пересвет (ФГБНУ «Пензенский НИИСХ»), Соратник (Кургансемена), Лидар (Агрокомпания Л И З), Камашевский, Тевкеч, Гузель, Эндан, Раушан (ФИЦ Казанский НЦ РАН), Поволжский – 49 (ФИЦ Самарский НЦ РАН); белорусские – Корнет, Колдун; немецкие – Фортуна, Эллинон, Абба, Калькюль, Норд 17/2645, Маргарет, Норд 17/2610, Файерфокс, Реванш; французские – Травелер, Эйфель; датские – Лаурика.

Отбор семян проводили согласно соответствующим нормативным требованиям. Почва сортоучастков – светло-серая лесная, среднесуглинистая. Содержание гумуса – 2,6 %, рН – 5,9, P₂O₅ – 320 мг/кг, K₂O – 260 мг/кг. Агротехнология возделывания ярового ячменя бы-

ла общепринятая для зоны Предкамья Республики Татарстан. Вегетационный период 2021 г. отличался острозасушливыми условиями.

Выделение эндофитных бактерий семян осуществляли по методике М. Simons et al. В каждом варианте отбирал по 100 семян, которые помещали в стерильную колбу, в течение 5 минут проводили стерилизацию 50 мл 70 %-ного этанола. Последующую стерилизацию осуществляли 4 %-ным гипохлоритом натрия (NaClO) с 0,5 мл додецил сульфата натрия (ДСН) и 38 мл дистиллированной воды в течение 15 мин. при комнатной температуре. После этого семена промывали не менее 6 раз 100 мл стерильной дистиллированной водой комнатной температуры до исчезновения запаха. Далее шпателем раскладывали семена на поверхности чашек Петри со средой LB и инкубировали при 28 °С. Через 2 суток определяли морфологическое разнообразие колоний микроорганизмов и количество колоний. Число КОЭ рассчитывали на 1 семя и на 1 г семян.

С учетом пленчатости семян ярового ячменя выделение эндофитных бактерий проводили и с измельчением семян. При использовании измельчения, размол проводили в стерильных условиях – в стерильной ступке стерильным пестиком с добавлением буфера. После поверхностной стерилизации (в течение 10 мин) семена перемалывали для приготовления суспензии, которую готовили следующим образом: 1 г перемолотых семян помещали в стерильную пробирку и заливали 9 мл фосфатного буфера, затем тщательно перемешивали с использованием мешалки типа Вортекс. Далее делали 5 последовательных разведений суспензии в фосфатном буфере, из которых отбирали по 0,1 мл суспензии и высаживали на чашки Петри с питательной средой LB с содержанием флуконазола 100 мг/л. Посев на питательной среде инкубировали в течение 2 суток при t=28 °С, после чего определяли общее КОЕ микроорганизмов на каждой чашке, а также число КОЕ всех разновидностей микроорганизмов.

Для оценки наличия антагонизма к фитопатогенным грибам у выделенных изолятов использовали метод встречных культур. На чашках Петри с питательной средой Сабуро выращивали фитопатогенный гриб *Fusarium oxysporum*. Посев на среду проводили, помещая ровно по центру чашки. По краям, вокруг колонии гриба высевали выделенные изоляты. После этого чашки Петри инкубировали в течение 5 суток при t – 28 °С. Затем визуально определяли проявление у бактерий антагонизма к грибу по способности ограничивать его рост, а также путем измерения зоны подавления роста колонии.

Результаты и обсуждение. Результаты оценки численности эндофитных бактерий показали ее значительную вариабельность между сортами ярового ячменя, как при выделении из целых семян, так и после размола (табл. 1).

При анализе целых семян происходит вы-

АГРОНОМИЯ

Таблица 1 – Численность эндофитных бактерий из семян различных сортов ярового ячменя (2021 г.)

Сорт	Без размола (целые семена), КОЕ		С размолом семян (×108 КОЕ)	
	на 1 г семян	на 1 семя	на 1 г семян	на 1 семя
Нургуш	14	0,48	2,30	0,0793
Травелер	12	0,57	2,20	0,1048
Фортуна	22	1,22	2,30	0,1278
Рафаэль	13	0,54	2,20	0,0917
Финист	29	1,45	1,80	0,0900
Корнет	25	1,32	1,70	0,0895
Эллинор	8	0,38	0,004	0,0002
Абба	7	0,39	1,70	0,0944
Орда	125	5,95	0,003	0,0001
Памяти Чепелева	12	0,52	0,001	0,0000
Пересвет	8	0,35	0,005	0,0002
Эйфель	4	0,20	0	0
Аккордин	5	0,26	0	0
Соратник	14	0,70	0	0
Лидар	42	2,10	0	0
ЯИК	7	0,32	0,083	0,0038
Камашевский	6	0,29	0,870	0,0414
Тевкеч	5	0,20	0,016	0,0006
Калькюль	18	0,78	0,990	0,0430
Норд 17/2645	4	0,22	0,009	0,0005
Гузель	7	0,39	0,028	0,0016
Эндан	7	0,35	0,001	0,0001
Поволжский – 49	3	0,13	0	0
Раушан	19	0,90	0,001	0,00005
Лаурикка	9	0,39	0,001	0,00004
Маргарет	5	0,24	0,004	0,0002
Норд 17/2610	13	0,68	0,017	0,0009
Файерфокс	11	0,58	0,420	0,0221
Колдун	4	0,20	0,330	0,0165
Реванш	9	0,47	0,760	0,0400
Среднее	15,57	0,75	0,591	0,028
НСР 05	0,71	0,04	0,022	0,001

деление эндофитных бактерий, которые обитают только в пленках семян ячменя. Поэтому численность их небольшая. При размоле выделяются бактерии, не только обитающие под пленками, но и в оболочке, эндосперме и зародыше семян (внутренняя эндосфера).

Наибольшее количество (как на 1 семя, так и на 1 г массы) при выделении эндофитных бактерий из целых семян (без размола) отмечено у сортов Орда и Лидар, наименьшее – Колдун и Поволжская-49. При этом отмечали значительное варьирование величины этого показателя между сортами. Так, численность эндофитных бактерий в расчете на 1 семя у сорта Орда составляла 125 КОЭ/семя, а у сорта Поволжская-49 – 3 КОЭ/семя.

При рассмотрении численности эндофитных бактерий, выделенных после размола, можно отметить, что из семян сортов Эйфель, Аккордин, Соратник, Лидар и Поволжский-49 не было выделено ни одного изолята эндофитных бактерий. При сравнении результатов с показателями для этих же сортов, полученными при анализе целых семян, можно сделать вывод о том, что у названных генотипов эндофитные бактерии преимущественно развиваются в пленках, но практически не проникают

в эндосперм и зародыш. По всей видимости, более длительная стерилизация при использовании метода размола привела к гибели эндофитных бактерий пленок семян ячменя. Такой эффект может быть связан и с особенностями морфологии семян этих сортов, что требует дополнительного изучения. В целом, при выделении эндофитных бактерий при размоле семян наибольшие показатели были у сортов Нургуш, Травелер, Фортуна и Рафаэль.

С учетом изложенного, можно сделать вывод о том, что для выделения эндофитов из семян ячменя необходимо использовать оба метода – без размола и с размолом семян.

Для оценки разнообразия эндофитных бактерий проводили анализ их морфотипов (табл. 2). Общее количество морфотипов колоний эндофитных бактерий было достаточно небольшим, независимо от способа их выделения. Причем при выделении из целых семян (эндофиты из пленок) количество морфотипов колоний было большее, чем после размола. Так, в среднем при первом методе по всем сортам наблюдали 3,10 морфотипов на один сорт, при втором – 1,7. Следовательно, разнообразие морфотипов эндофитов пленок семян ячменя выше, чем оболочки, зародыша и эндосперма. Скорее всего это связано с тем, что

АГРОНОМИЯ

Таблица 2 – Число отличных по морфологическим признакам типов колоний эндофитных бактерий, выделенных из семян различных сортов ярового ячменя (2021 г.), шт.

Сорт	Число колоний, отличных по морфологическим признакам типов	
	без размола	с размолом
Нургуш	6	3
Травелер	3	4
Фортуна	3	3
Рафаэль	2	2
Финист	3	3
Корнет	3	3
Эллинор	3	1
Абба	2	2
Орда	3	1
Памяти Чепелева	2	1
Пересвет	2	2
Эйфель	3	0
Аккордин	1	0
Соратник	2	0
Лидар	5	0
ЯИК	3	3
Камашевский	3	1
Тевкеч	3	1
Калькюль	4	1
Норд 17/2645	3	3
Гузель	3	3
Эндан	4	1
Поволжский 49	2	0
Раушан	4	1
Лаурикка	5	1
Маргарет	3	2
Норд 17/2610	4	2
Файерфокс	3	1
Колдун	4	3
Реванш	2	3
В среднем	3,1	1,7

пленки семени контактируют с окружающей средой сильнее, тогда как внутреннее содержимое семян более изолировано.

В общей сложности из семян ярового ячменя различных сортов было выделено 104 изолята, которые различались по морфологическим признакам колоний. Чаще всего при размоле семян выделялись такие же колонии, что обнаруженные и в материале без размола. Однако у ряда сортов (Травелер, Корнет, Перестет, ЯИК, Раушан, Маргарет, Реванш) из размолотых семян, были выделены изоляты, которые не встречались в пленках (при использовании метода без размола). Скорее всего,

данные изоляты приспособлены к существованию внутри семян ячменя.

Из 104 выделенных изолятов эндофитных бактерий, только 11 проявили активность в отношении фузариозной инфекции (табл. 3). Они были выделены из семян 4 сортов ячменя из РФ, 3 сортов из Германии и 2 сортов из Франции. С точки зрения активности в отношении подавления развития *Fusarium oxysporum*, лучше всего проявил изолят, выделенный из сорта ячменя Реванш немецкой селекции, у которого зона подавления роста патогена составила 6,0 мм.

Выводы. Проведенные исследования

Таблица 3 – Число изолятов эндофитных бактерий семян различных сортов ярового ячменя, обладающих активностью в отношении *Fusarium oxysporum* (2021 г.), шт.

Сорт	Число активных изолятов, шт.	Зона подавления роста колонии гриба, мм
Травелер	1	3,5
Фортуна	2	3,0*
Рафаэль	1	3,0
Пересвет	1	2,0
Эйфель	2	4,0*
Соратник	1	3,0
Лидар	1	4,0
Калькюль	1	5,0
Реванш	1	6,0

Примечание: - – данные по наиболее активному штамму.

показали, что существуют выраженные различия как по количеству, так и по активности, в отношении фузариозной инфекции, у эндофитных бактерий семян, выделенных из различных сортов ярового ячменя. Выделение эндофитов из семян ячменя возможно как без размола (для выделения из пленок), так и с размолом (выделение из оболочки, эндосперма и зародыша семени).

Активностью в подавлении роста фитопатогенного гриба *Fusarium oxysporum* обладала

лишь небольшая часть выделенных изолятов эндофитных бактерий. Наиболее активным был изолят, выделенный из сорта Реванш (зона подавления роста колонии гриба – 6,0 мм).

Благодарности. Работа выполнена в рамках реализации проекта «Генетическая технология селекции микроорганизмов и конструирования консорциумов на их основе для создания биопрепаратов в растениеводстве» (уникальный идентификатор контракта RF-1930.61321X0001)

Литература

1. Reinhold-Hurek B., Hurek T. Living inside plants: bacterial endophytes//Curr. Opin. Plant Biol. 2011. Vol.14. P. 435–443.
2. The hidden world within plants: ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes / P.R. Hardoim, S. van Overbeek, G. Berg, et al. //MMBR. 2015. Vol. 79. P.293-320.
3. Благовещенская Е.Ю. Эндофитные грибы злаков. Дис. ... канд. биол. наук. М.: МГУ, 2006. 138 с.
4. Plant growth-promoting bacterial endophytes / G. Santoyo, G. Moreno-Hagelsieb, M. Orozco-Mosqueda // Microbiol. Res. 2016. Vol.183. P. 92–99.
5. Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants I. Afzal, Z. K. Shinwari, S. Sikandar, et al // Microbiological Research. 2019. Vol.221. P. 36–49.
6. Endophytic 895 bacteria: perspectives and applications in agricultural crop production. Bacteria in Agrobiology / M. Senthilkumar, R. Anandham, M. Madhaiyan, et al. //Crop 896 Ecosystems. Springer, 2011. P. 61–96.
7. Rosenblueth M. Bacterial endophytes and their interactions with hosts//Mol. Plant Microbe Interact. 2006. Vol.19. P. 827–837.
8. Compant S., Clément C., Sessitsch A. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization //Soil Biol. Biochem. 2010. Vol.42. P. 669–678.
9. Beneficial role of bacterial endophytes in heavy metal phytoremediation/ Y. Ma, M. Rajkumar, C. Zhang, et al. //J. Environ. Manage. 2016. Vol.174. P.14–25.
10. The importance of the microbiome of the plant holobiont / P. Vandenkoornhuysen, A. Quaiser, M. Duhamel, et al. //New Phytol. 2015. Vol. 206. P. 1196–1206.
11. Card S. D., et al. Beneficial endophytic microorganisms of Brassica—A review // Biol. Control. 2015. Vol. 90. P. 102–112.
12. Shahzad R. A., et al. What Is there in seeds? Vertically transmitted endophytic resources for sustainable improvement in plant growth //Front. Plant Sci. 2018. Vol. 9. P.24.
13. Bacterial seed endophytes: genera, vertical transmission and interaction with plants / S. Truyens, N. Weyens, A. Cuypers, et al. // Environ. Microbiol. Rep. 2015. Vol.7. P. 40–50.
14. Invasive *Lactuca serriola* seeds contain endophytic bacteria that contribute to drought tolerance / S. Jeong, T. M. Kim, B. Choi, et al. // Sci. Rep. 2021. Vol.11. P. 1–12.
15. Hone H., et al. Profiling, isolation and characterisation of beneficial microbes from the seed microbiomes of drought tolerant wheat // Sci Rep. 2021. Vol.11. 11916.
16. Kanchan K., et al. Seed Endophytic Bacteria of Pearl Millet (*Pennisetum glaucum* L.) Promote Seedling Development and Defend Against a Fungal Phytopathogen//Frontiers in Microbiology. 2021. Vol.11. 11916.
17. Akimoto-Tomiyama C. Multiple endogenous seed-borne bacteria recovered rice growth disruption caused by *Burkholderia glumae* //Sci Rep. 2021. Vol.11. P. 4177.
18. Endophytic *Bacillus* spp. produce antifungal lipopeptides and induce host defence gene expression in maize / S. K. Gond, M. S. Bergen, M. S. Torres, et al. //Microbiol. Res. 2015. Vol.172. P.79–87.
19. Verma S. K., White J. F. Indigenous endophytic seed bacteria promote seedling development and defend against fungal disease in browntop millet (*Urochloa ramosa* L.) //J. Appl. Microbiol. 2018. Vol.124. P.764–778
20. Pitzschke A. Developmental peculiarities and seed-borne endophytes in quinoa: omnipresent, robust bacilli contribute to plant fitness//Front. Microbiol. 2016. Vol. 7. P.2.
21. Soldan R., et al. Bacterial endophytes of mangrove propagules elicit early establishment of the natural host and promote growth of cereal crops under salt stress //Microbiol. Res. 2019. Vol. 223. P. 33–43.
22. Rodríguez C. E., et al. Heritability and functional importance of the *Setaria viridis* bacterial seed microbiome//Phytobiomes J. Vol. 4. P. 40–52.
23. L'Hoir M., Duponnois R. Combining the Seed Endophytic Bacteria and the Back to the Future Approaches for Plant Holobiont Breeding// Frontiers in Agronomy. 2021. Vol. 4. P. 48.

Сведения об авторах:

Афанасьева Дария Сергеевна – ассистент кафедры общего земледелия, защиты растений и селекции, e-mail: darya_afanasyeva@list.ru

Абрамова Арина Алексеевна – аспирант кафедры общего земледелия, защиты растений и селекции, e-mail: abramova92a@yandex.ru

Дмитриева Полина Андреевна – студент, polinadmitrieva99@gmail.com

Сафина Диана Радиковна – магистр 2 года обучения, safdia@mail.ru

Чупина Елизавета Николаевна – студент, senechkaav@gmail.com

Ярмиева Аделя Илсуровна – магистр 2 года обучения, yarmieva.adilya@yandex.ru

Сафин Радик Ильясевич – доктор сельскохозяйственных наук, профессор кафедры общего земледелия, защиты растений и селекции, e-mail: radiksaf2@mail.ru

Казанский государственный аграрный университет, Казань, Россия

EVALUATION OF VARIOUS VARIETIES OF BARLEY ON ENDOPHYTIC MICROFLORE OF SEEDS

D.S. Afanaseva, A.A. Abramova, P.A. Dmitrieva, D.R. Safina, E.N. Chupina, A.I. Yarmieva, R.I. Safin

Abstract. Endophytic microorganisms, including bacteria, are among the most promising biological agents for creating new biological plant protection products. Among the microorganisms of these groups, endophytic seed bacteria are of particular interest.

The objects of research were 30 varieties of spring barley of Russian and foreign selection. All varieties were grown under the same conditions.

The aim of the research was to study the endophytic microflora of seeds of various genotypes (cultivars) of spring barley. At the same time, bacteria were isolated from seeds without grinding (external endophytes) and with grinding (internal endophytes). The total number of isolated bacteria per seed and per 1 g of seed mass was estimated, and their activity against phytopathogenic fungi of the *Fusarium* genus was determined.

Differences between varieties of spring barley have been established in terms of the number of endophytic bacteria isolated both from the surface (films) and directly from seeds. In a number of varieties (Eifel, Akkordin, Sortanik, Lidar, and Povolzhsky-49), endophytic bacteria were not isolated during seed material grinding (internal endophytes), while they were isolated from whole seeds (external endophytes). In general, 104 isolates were isolated from the seeds of spring barley of various varieties, which differed in the morphological characteristics of colonies on nutrient media. At the same time, only 11 out of 104 isolates showed activity in suppressing the development of the phytopathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. This effect was most pronounced in a bacterium isolated from the seeds of the Revansh barley variety of German breeding. The established varietal differences between the genotypes of spring barley in terms of the number of endophytic microorganisms, taking into account their close relationship with the host plant, can be used both in the selection evaluation of various crop genotypes and in the isolation of promising bioagents for the creation of new biological products.

Key words: spring barley, varieties, seeds, endophytic microorganisms, endophytic bacteria.

References

1. Reinhold-Hurek B., Hurek T. Living inside plants: bacterial endophytes/ B.Reinhold-Hurek, //Curr. Opin. Plant Biol. 2011. Vol.14. P. 435–443.
2. Haroim P.R., van Overbeek S., Berg G. et al. The hidden world within plants: ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes //MMBR. 2015. Vol. 79. P.293-320.
3. Благовещенская Е.Ю. Эндофитные грибы злаков. Дис. ... канд. биол. наук. М.: МГУ, 2006. 138 с.
4. Santoyo G., Moreno-Hagelsieb G., del Carmen Orozco-Mosqueda M., Glick B.R. Plant growth-promoting bacterial endophytes. //Microbiol. Res. 2016. Vol.183. P. 92–99.
5. Afzal I., Shinwari Z. K., Sikandar S., Shahzad S.Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants// Microbiological Research. 2019. Vol.221. P. 36–49.
6. Senthilkumar M. Anandham R., Madhaiyan M., Venkateswaran V., Sa T .Endophytic 895 bacteria: perspectives and applications in agricultural crop production. Bacteria in Agrobiolgy //Crop 896 Ecosystems. Springer, 2011. P. 61–96.
7. Rosenblueth M. Bacterial endophytes and their interactions with hosts//Mol. Plant Microbe Interact. 2006. Vol.19. P. 827–837.
8. Compant S., Clément, C., Sessitsch, A., Plant growth-promoting bacteria in the rhizo-and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization //Soil Biol. Biochem. 2010. Vol.42. P. 669–678.
9. Ma Y., Rajkumar M., Zhang C., Freitas H. Beneficial role of bacterial endophytes in heavy metal phytoremediation//J. Environ. Manage. 2016. Vol.174. P.14–25.
10. Vandenkoornhuyse P., Quaiser A., Duhamel M., Le Van A. & Dufresne A. The importance of the microbiome of the plant holobiont//New Phytol. 2015. Vol. 206. P. 1196–1206.
11. Card S. D. et al. Beneficial endophytic microorganisms of Brassica—A review // Biol. Control. 2015. Vol. 90. P. 102–112.
12. Shahzad R. A. et al.What Is there in seeds? Vertically transmitted endophytic resources for sustainable improvement in plant growth //Front. Plant Sci. 2018. Vol. 9. P.24.
13. Truyens S., Weyens N., Cuypers A. & Vangronsveld J. Bacterial seed endophytes: genera, vertical transmission and interaction with plants// Environ. Microbiol. Rep. 2015. Vol.7. P. 40–50.
14. Jeong S., Kim T. M., Choi B., Kim Y. and Kim E.I nvasive *Lactuca serriola* seeds contain endophytic bacteria that contribute to drought tolerance//Sci. Rep. 2021. Vol.11. P. 1–12.
15. Hone H. et al. Profiling, isolation and characterisation of beneficial microbes from the seed microbiomes of drought tolerant wheat//Sci Rep. 2021. Vol.11. 11916.
16. Kanchan K. et al. Seed Endophytic Bacteria of Pearl Millet (*Pennisetum glaucum* L.) Promote Seedling Development and Defend Against a Fungal Phytopathogen//Frontiers in Microbiology. 2021. Vol.11. 11916.
17. Akimoto-Tomiyama, C. Multiple endogenous seed-born bacteria recovered rice growth disruption caused by *Burkholderia glumae* //Sci Rep. 2021. Vol.11. P. 4177.
18. Gond S. K., Bergen M. S., Torres M. S. and White J. F. Jr. Endophytic *Bacillus* spp. produce antifungal lipopeptides and induce host defence gene expression in maize //Microbiol. Res. 2015. Vol.172. P.79–87.
19. Verma S. K., White J. F. Indigenous endophytic seed bacteria promote seedling development and defend against fungal disease in browntop millet (*Urochloaramosa* L.) //J. Appl. Microbiol. 2018. Vol.124. P.764–778
20. Pitzschke A. Developmental peculiarities and seed-borne endophytes in quinoa: omnipresent, robust bacilli contribute to plant fitness//Front. Microbiol. 2016. Vol. 7. P.2.
21. Soldan R. et al. Bacterial endophytes of mangrove propagules elicit early establishment of the natural host and promote growth of cereal crops under salt stress //Microbiol. Res. 2019. Vol. 223. P. 33–43.
22. Rodríguez C. E. et al. Heritability and functional importance of the *Setaria viridis* bacterial seed microbiome// Phytobiomes J. Vol. 4. P. 40–52.
23. L'Hoir M., Duponnois R. Combining the Seed Endophytic Bacteria and the Back to the Future Approaches for Plant Holobiont Breeding// Frontiers in Agronomy. 2021. Vol. 4. P. 48.

Authors:

Afanasyeva Dariya Sergeevna – Assistant of the Department of General Agriculture, Plant Protection and Breeding, e-mail: darya_afanasyeva@list.ru

Abramova Arina Alekseevna – postgraduate student of the Department of General Agriculture, Plant Protection and Breeding, e-mail: abramova92a@yandex.ru

Dmitrieva Polina Andreevna – student, polinadmitrieva99@gmail.com

Safina Diana Radikovna – master, 2 years of study, safdia@mail.ru

Chupina Elizaveta Nikolaevna – student, senechkaav@gmail.com

Yarmieva Adilya Ilurovna - master of 2 years of study, yarmiewa.adilya@yandex.ru

Safin Radik Ilyasovich - Doctor of Agricultural Sciences, Professor of the Department of General Agriculture, Plant Protection and Breeding, e-mail: radiksaf2@mail.ru

Kazan State Agrarian University, Kazan, Russia

Acknowledgement. The work was carried out within the framework of the project "Genetic technology for selection of microorganisms and design of consortiums based on them for the creation of biological products in crop production" (unique contract identifier RF-1930.61321X0001).