

УДК 632.911.2

DOI 10.29039/2413-1725-2024-10-4-182-195

**НОВЫЙ ПОДХОД К ОПРЕДЕЛЕНИЮ БИОКОНТРОЛИРУЮЩЕЙ
ЭФФЕКТИВНОСТИ ШТАММОВ МИКРОМИЦЕТОВ НА ПРИМЕРЕ
*TRICHODERMA SP.***

Сидякин А. И., Чмелёва С. И., Джелдубаева Э. Р., Туманянц К. Н., Белоусов В. В.

*Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Россия
E-mail: acid2302@mail.ru*

В статье приводится описание новой модификации подхода к изучению антагонистической активности микроорганизмов на примере штаммов триходермы и фитопатогенных грибов. На основании исследования антагонистической активности двадцати одного нового штамма *Trichoderma* в отношении пятнадцати штаммов фитопатогенных грибов, с применением модифицированного метода перпендикулярных штрихов и применением формул Хендерсона-Тилтона для расчета биологической эффективности штамма в подавлении патогенов, а так же индекса подавления роста патогена отобраны новые высокоэффективные штаммы триходермы, подавляющие рост широкого спектра возбудителей различных микозов растений. Показано, что биологическая эффективность и способность подавлять рост колоний фитопатогенных микромицетов родов *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* у новых штаммов триходермы варьирует.

Ключевые слова: микромицеты, *Trichoderma*, биологическая эффективность, фитопатогенные грибы.

ВВЕДЕНИЕ

Грибы рода *Trichoderma* хорошо известны как широко применяемый в различных отраслях промышленности агент. Представители данного рода известны как продуценты различных гликозил-гидролаз (карбогидразы, гликозидазы), как источник антибактериальных соединений, используются в производстве биопрепаратов для защиты растений от болезней и стимуляции их роста и урожайности [1, 2]. Показано, что одним из факторов, который способствует их полезной биологической активности, связан с большим разнообразием метаболитов, которые они производят, которые позволяют растению противодействовать заболеванию с помощью компенсаторного усиленного вегетативного роста систем корней и побегов [3].

Наиболее широко используемыми видами в различных отраслях промышленности являются следующие виды: при производстве гликозил-гидролаз производственного назначения используются виды *Trichoderma longibrachiatum* Rifai, а в сельскохозяйственной биотехнологии в части защиты растений от фитопатогенов используют виды: *Trichoderma harzianum* Rifai (синоним –

Trichoderma inhamatum Veerkamp & W. Gams); *Trichoderma virens* (Miller, Giddens & Foster) Arx; *Trichoderma asperellum* Samuels, Liechfeldt & Nirenberg; *Trichoderma koningii* Oudem; *Trichoderma lignorum* Harz (синонимы – *Trichoderma glaucum* E.V. Abbott; *Trichoderma strictipile* Bissett; *Trichoderma viride* Persoon) [4].

В результате многолетней научно-исследовательской работы в НПО Биотехсоюз были получены штаммы *Trichoderma longibrachiatum* Rifai, обладающие биоконтролирующими свойствами в отношении ряда фитопатогенных микромицетов – возбудителей микозов сельскохозяйственных культур [5]. Штаммы *Trichoderma longibrachiatum* являются основой биопрепарата ТрихоПлант, но в связи с поиском новых более эффективных штаммов триходермы, и развивающейся устойчивостью к ним штаммов фитопатогенных микроорганизмов, встает вопрос о поиске новых вариантов штаммов этого вида микромицетов, с повышенной биологической активностью в отношении подавления фитопатогенов, в связи с чем вопрос оценки антагонистической активности новых штаммов триходермы имеет как теоретическое так и практическое значение.

В связи с вышесказанным, целью настоящей работы являлось адаптация известного методического подхода оценки биологической эффективности штаммов микроорганизмов-антагонистов на примере различных штаммов *Trichoderma* sp.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Определение биоконтролирующей эффективности, антагонистической активности и типа взаимодействия фитопатогенов и триходермы проводили предлагаемой модифицированной нами варианте метода параллельных штрихов (метод параллельных подсево).

Подготовка культур. Для получения конидий или мицелиальной массы фитопатогены культивировали в течение 7–14 суток на поверхности скошенного картофельно-глюкозного агара (КГА) [6]. Экспериментальную часть по исследованию антагонизма и биоконтролирующих свойств триходермы в отношении патогенных микромицеты проводили так же с использованием среды КГА.

Суспензию конидий (или фрагментов мицелия) фитопатогенов (на третьи – пятые сутки спороношения) готовили путем смывов с поверхности скошенного КГА раствором содержащим 0,5 % NaCl, 0,01 % K₂HPO₄, 0,02 % KH₂PO₄, 0,01 % MgCl₂·6H₂O, по 0,5 % глюкозы и сахарозы и 0,25 % полисорбата-80.

Полученной суспензией фрагментов мицелия и спор фитопатогенов с титром не менее 1,0 млн КОЕ/см³ смачивали полоски фильтровальной бумаги размерами 20×5 мм.

Штаммы *Trichoderma* для эксперимента так же выращивали на скошенном КГА-агаре в течение 5–7 суток. Конидии смывали используя тот же состав, что и для фитопатогенов. Для посева в чашки с фитопатогенами титр конидий штаммов триходермы доводили до 1–5 тыс. КОЕ/см³ (т.е. на три порядка меньше, чем используемые фитопатогены).

Методика проведения эксперимента. В чашку Петри (диаметр чашки – 9 см), на равном расстоянии от краев (1 см) и центра (3,5) чашки, по шаблону (рис. 1) на поверхность подсушенного картофельно-глюкозного агара помещали по три

высечки из фильтровальной бумаги размерами 20,0×5,0 мм, смоченных споровой взвесью исследуемого фитопатогена с титром спор не менее 2×10^6 КОЕ/мл.

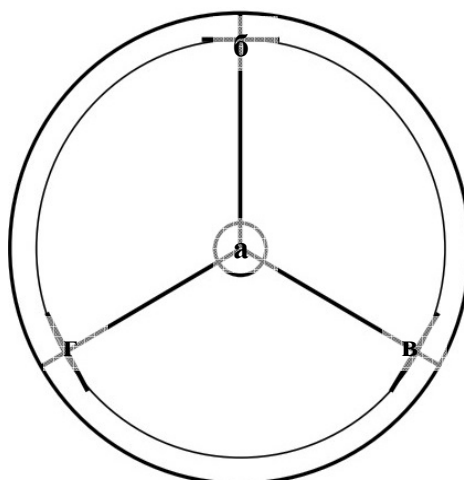


Рис. 1. Шаблон-схема используемая для определения антагонистической активности *Trichoderma* sp. в отношении фитопатогенных микромицетов: а – место размещения диска с диаметром 6 мм с суспензией конидий триходермы; б, в г, – места размещения полосок 20×5 мм с фитопатогенными микромицетами.

Т.к. в природной среде микробные культуры никогда не растут в виде монокультур, то в одну чашку помещали три разных фитопатогена. В центр чашки петри помещали диск, диаметром 6,0 мм, смоченный взвесью спор исследуемого штамма триходермы с титром спор не более 2×10^5 КОЕ/мл (опыт); или не помещали ничего (контроль). Повторность опытов пятикратная.

Культуры микромицетов. В эксперименте использовали штаммы *Trichoderma* собственной селекции полученные по оригинальной методике [7], и пятнадцать штаммов фитопатогенов – возбудителей микозов сельскохозяйственных культур из собственной коллекции фитопатогенных микромицетов, выделенных от растений с признаками тех или иных заболеваний: выделенных от растений с признаками тех или иных заболеваний: *Fusarium* sp. 84 (2), *Fusarium sporotrichioides* БР – 1 - 1, *Fusarium* sp. 1 - 01 – а, *Fusarium* sp. fragaria, *Fusarium* sp. 59 (2), *Alternaria alternata*, *Fusarium* sp. 81(1), *Fusarium* sp. МО 1-01а, *Penicillium* sp. 173(2), *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus fumigatus* 97(1), *Aspergillus flavus* 2016, *Aspergillus flavus* R., *Penicillium viridicatum*.

Оценка биоконтролирующих и антагонистических свойств. После инокуляции чашки устанавливали в термостат, культивировали при 25 °С. Спустя одни и четверо суток измеряли диаметр колонии фитопатогена в двух взаимно перпендикулярных плоскостях и на основании того, что рост колонии фитопатогена изодиаметрален, а используемый инокулят – прямоугольный; то с помощью

формулы площади эллипса по измеренным линейным размерам колонии фитопатогена рассчитывали его площадь колонии по формуле площади эллипса.

Антагонистическую (биологическую, биоконтролирующую) активность штаммов триходермы в отношении фитопатогенных микроорганизмов оценивали с использованием двух критериев: первый критерий – индекс изменения размеров (I_p) колонии фитопатогена на первые и четвертые сутки совместного культивирования, выраженная в процентах, относительно размеров колонии этого же фитопатогена в контроле – т.е. в отсутствии штамма триходермы (формула 1).

$$I_p = \frac{100 \times O_p}{K} \quad [1]$$

где: I_p – индекс изменения размеров колонии фитопатогена, O_p – площадь колонии фитопатогена в опытном варианте (т.е. при совместном с триходермой культивировании); K – площадь колонии фитопатогена в контрольном варианте (т.е. в отсутствии триходермы); 100 – коэффициент пересчета данных в проценты.

Показатель I_p рассчитывали для первых и четвертых суток совместного с триходермой (опыт), или без триходермы (контроль) варианта культивирования, что в дальнейшем позволило построить графики выражающие направленность изменения размеров колоний фитопатогенов, которые отражают направленность взаимоотношений триходерма-фитопатоген.

Второй использованный нами критерий – биологическая эффективность (B_E) штамма триходермы т.е его способность подавлять рост колоний данного фитопатогена, которую определяли с использованием модифицированной формулы Хендерсона-Гилтона [8] (формула 2).

$$B_E = \left(1 - \frac{E_a}{E_b} \times \frac{C_b}{C_a}\right) \times 100 \quad [2]$$

где: B_E – (биологическая эффективность, %) показывает, на сколько процентов исследуемый штамм *Trichoderma* подавляет или задерживает рост колонии фитопатогена по сравнению с контролем; C_a – прирост колонии фитопатогена в контроле, на первые сутки учета; C_b – прирост колонии фитопатогена в контроле, на N-ные сутки учета; E_a – прирост колонии фитопатогена в опыте (при совместном культивировании с триходермой), на первые сутки учета; E_b – прирост колонии фитопатогена в опыте (при совместном культивировании с триходермой), на N-ные сутки учета; 1 и 100 – переводные коэффициенты.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как показали проведенные исследования фунгистатической активности новых штаммов *Trichoderma* sp. в отношении представителей рода *Fusarium*, *Aspergillus* и *Penicillium*, результаты которых представлены данными рисунков 2 и 3, штаммы *Trichoderma* №№ 1–6 подавляли рост колоний *Fusarium* sp. 81 (1), *Penicillium* sp. 173 (2), *Aspergillus clavatus*, *Fusarium* sp. MO 1 – 01a, *Aspergillus fumigatus*. Более

эффективно подавляет рост перечисленных фитопатогенов штаммы *Trichoderma* №№ 1, 3, 5 которые кроме указанных фитопатогенов активно снижают скорость роста колоний *Aspergillus fumigatus* 97 (1). Наименьшую активность подавления изучаемых штаммов фитопатогенов по результатам наших опытов проявляли штаммы *Trichoderma* №2, 6, которые в отношении одного фитопатогена (*Aspergillus fumigatus* 97 (1)) оказались не эффективными (рис. 2).

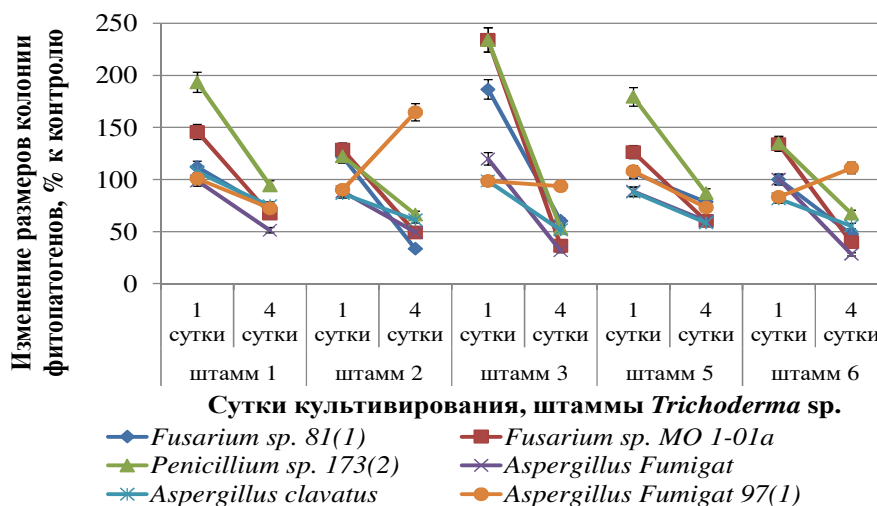


Рис. 2. Изменение размеров (индекс прироста) колоний фитопатогенных микромицетов при совместном культивировании с новыми штаммами *Trichoderma* sp. №№1-6.

Как показывает анализ данных биологической эффективности вышеперечисленных штаммов *Trichoderma* sp. уровень биоконтролирующих свойств их довольно высокий – и находится в пределах от 48 до 98 % (табл. 1).

Наши исследования показывают, что в отношении *Asp. fumigatus* 97(1) штаммы *Trichoderma* sp. №№ 2–6 не оказывали биоконтролирующих свойств – т.е. не подавляли его рост. Индекс биологической эффективности указанных штаммов *Trichoderma* sp. в отношении *Asp. fumigatus* 97(1) составил от -11 – -12 % (штаммы *Trichoderma* sp. № 4 и № 5) до -20 – -21 % (штаммы *Trichoderma* sp. № 2 и № 6) (рис. 3, табл. 1).

Проведенные исследования фунгистатической активности новых штаммов *Trichoderma* sp. в отношении представителей родов *Fusarium*, *Aspergillus* и *Penicillium*, штаммы *Trichoderma* №№ 7–13 подавляли рост колоний *Fusarium* sp. 81 (1), *Penicillium* sp. 173 (2), *Aspergillus clavatus*, *Fusarium* sp. MO 1 – 01a, *Aspergillus fumigatus*. В отношении фитопатогена *Aspergillus fumigatus* 97 (1) все перечисленные штаммы оказались не эффективными. Анализ данных биологической эффективности вышеперечисленных штаммов *Trichoderma* sp. уровень биоконтролирующих свойств их довольно высокий – и находится в пределах от 46 до 98 %.

Таблица 1.

Биологическая эффективность (B_E) новых штаммов *Trichoderma* sp. в отношении подавления роста колоний фитопатогенных микромицетов, рассчитанная по формуле Хендерсона-Тилтона

Штаммы фитопатогена	Штаммы <i>Trichoderma</i> sp.; биологическая эффективность, %																				
	штамм1	штамм2	штамм3	штамм4	штамм5	штамм6	штамм7	штамм8	штамм9	штамм10	штамм11	штамм12	штамм13	штамм14	штамм15	штамм16	штамм17	штамм18	штамм19	штамм20	штамм21
<i>Fusarium</i> sp. 84(2)	92	92	94	95	98	94	95	96	96	94	96	96	93	92	93	95	95	94	64	94	92
<i>Fus. sporotrichoides</i> БР-1-1	94	95	96	96	96	94	96	98	-6	97	87	98	95	97	95	95	97	99	94	96	99
<i>Fusarium</i> sp. 1-01-a	90	92	94	92	93	88	90	96	95	90	96	96	91	92	90	94	94	96	94	94	91
<i>Fusarium</i> sp. <i>fragaria</i>	80	78	87	72	80	76	67	78	84	87	78	89	82	78	85	84	79	73	80	80	79
<i>Fusarium</i> sp. 59 (2)	72	72	74	84	75	76	70	74	70	74	78	73	69	67	72	72	79	67	68	76	76
<i>Alternaria alternata</i>	62	65	80	72	63	81	79	66	83	83	67	84	31	44	78	79	70	62	80	43	50
<i>Fusarium</i> sp. 81(1)	80	48	73	69	74	86	79	66	73	70	68	46	77	64	71	82	77	-5	39	48	72
<i>Fusarium</i> sp. Mo 1-01a	97	97	98	97	98	97	98	97	98	98	97	98	97	98	96	98	98	94	97	89	98
<i>Penicillium</i> sp. 173(2)	97	93	94	92	98	94	98	94	95	95	94	95	97	90	92	96	94	94	95	89	98
<i>Asp. fumigatus</i>	96	96	97	94	97	93	97	96	56	94	93	98	94	95	94	97	98	95	97	95	97
<i>Asp. clavatus</i>	92	79	91	89	80	90	92	91	91	90	87	92	87	89	87	92	91	91	91	88	95
<i>Asp. fumigatus</i> 97(1)	86	-20	-19	-12	-11	-21	-14	-37	-20	-16	-17	-11	-14	-19	-18	-18	-19	-14	-12	88	95
<i>Asp. flavus</i> 2016	93	95	97	94	97	93	94	96	97	93	99	93	96	94	93	98	96	93	94	95	95
<i>Asp. flavus</i> R.	90	84	94	94	93	93	93	92	96	92	88	95	89	93	82	93	95	93	92	89	93
<i>Pen. viridicatum</i>	76	87	84	69	78	77	73	77	79	68	66	65	-12	68	61	64	81	84	83	75	76

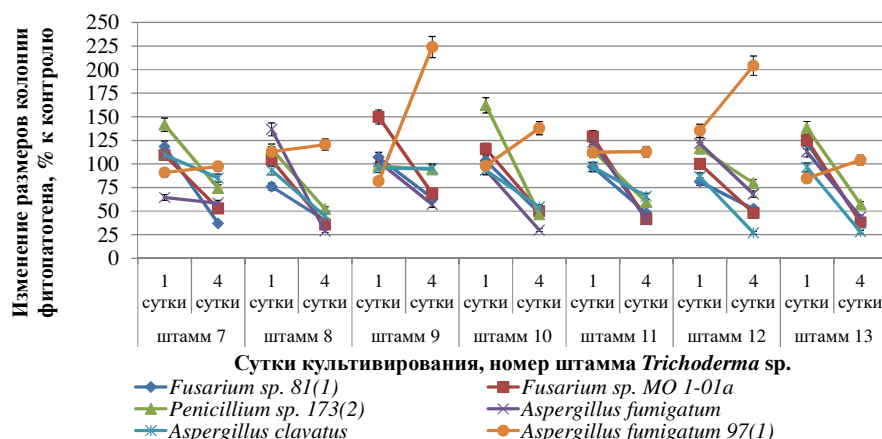


Рис. 3. Влияние новых штаммов *Trichoderma* sp. №№7–13 на изменение размеров колоний фитопатогенных микромицетов (индекс прироста) при совместном культивировании.

Наши исследования показывают, что в отношении *Asp. fumigatus* 97(1) штаммы *Trichoderma* sp. №№ 7–13 не оказывали биоконтролирующих свойств – т.е. не подавляли его рост. Индекс биологической эффективности указанных штаммов *Trichoderma* sp. в отношении *Asp. fumigatus* 97(1) составил от -11 – -14% (штаммы *Trichoderma* sp. № 12 и № 7, 13) до -20 – -37% (штаммы *Trichoderma* sp. № 9 и № 8).

Как показали проведенные исследования фунгистатической активности новых штаммов *Trichoderma sp.* в отношении представителей родов *Fusarium*, *Aspergillus* и *Penicillium*, штаммы *Trichoderma* №№ 14–21 подавляли рост колоний *Fusarium sp.* 81 (1), *Penicillium sp.* 173 (2), *Aspergillus clavatus*, *Fusarium sp.* MO 1 – 01a, *Aspergillus fumigatus*. Более эффективно подавляет рост перечисленных фитопатогенов штаммы *Trichoderma* №№ 20, 21 которые кроме указанных фитопатогенов активно снижают скорость роста колоний *Aspergillus fumigatus* 97 (1). Наименьшую активность подавления изучаемых штаммов фитопатогенов по результатам наших опытов проявляли штаммы *Trichoderma* №№ 14–19, которые в отношении одного фитопатогена оказались не эффективными: *Aspergillus fumigatus* 97 (1) (рис. 4).

Как показывает анализ данных биологической эффективности вышеперечисленных штаммов *Trichoderma sp.* уровень биоконтролирующих свойств их высокий – и находится в пределах от 48 до 98 % (табл. 1).

Наши исследования показывают, что в отношении *Asp. fumigatus* 97(1) штаммы *Trichoderma sp.* №№ 14–19 индекс биологической эффективности составил от -12 – -14 % (штаммы *Trichoderma sp.* № № 18,19) до -19 % (штаммы *Trichoderma sp.* №№14–17). Так же не эффективным в отношении подавления *Fusarium sp.* 81(1) оказался штамм *Trichoderma sp.* № 18 (индекс BE равен -5 %).

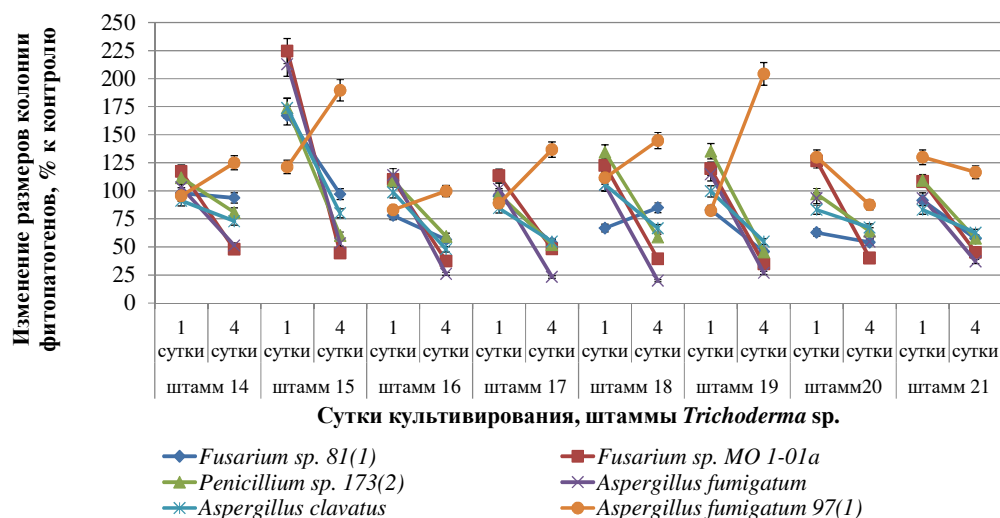


Рис. 4. Изменение размеров (индекс прироста) колоний фитопатогенных микромицетов при совместном культивировании с новыми штаммами *Trichoderma sp.* №№14–21.

Как показали проведенные исследования фунгистатической активности новых штаммов *Trichoderma sp.* в отношении представителей рода *Fusarium* и *Alternaria alternata*, штаммы *Trichoderma* №№ 1–7 подавляли рост колоний *Fusarium sp.* 84 (2), *Fusarium sp.* 1 – 01 – a, *Fusarium sp. fragaria*, *Fusarium sp.* 59 (2) (рис. 5).

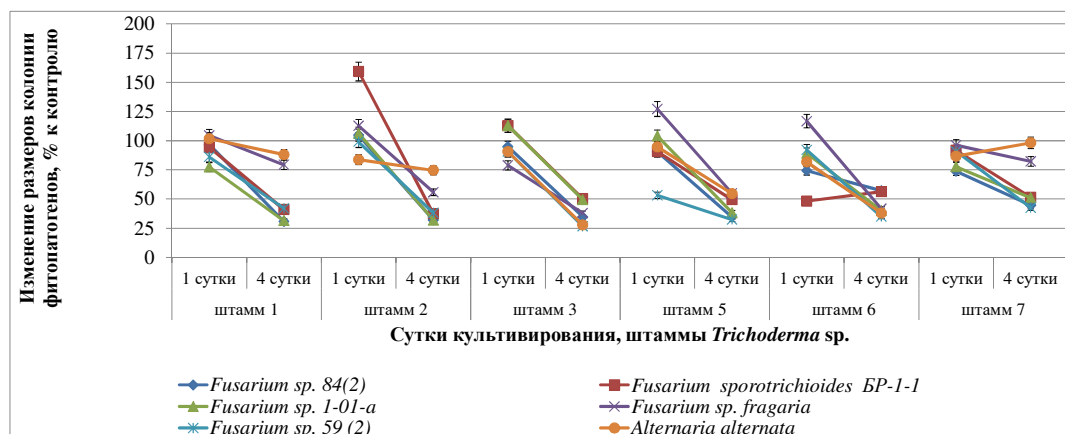


Рис. 5. Влияние новых штаммов *Trichoderma* sp. №№1–7 на изменение размеров (индекс прироста) колоний фитопатогенных микромицетов при совместном культивировании.

Более эффективно подавляет рост перечисленных фитопатогенов штаммы *Trichoderma* №№ 1–5, которые кроме указанных фитопатогенов активно снижают скорость роста колоний *Fusarium sporotrichioides* БР – 1 – 1 и *Alternaria alternata*. Наименьшую активность подавления изучаемых штаммов фитопатогенов по результатам наших опытов проявляли штаммы *Trichoderma* №№ 6, 7, которые в отношении двух фитопатогенов оказались не эффективными: *Fusarium sporotrichioides* БР – 1 – 1 и *Alternaria alternata*. Анализ данных биологической эффективности вышеперечисленных штаммов *Trichoderma* sp. уровень биоконтролирующих свойств их высокий – и находится в пределах от 62 до 98 %.

Как показали проведенные исследования фунгистатической активности новых штаммов *Trichoderma* sp. в отношении представителей рода *Fusarium* и *Alternaria alternata*, штаммы *Trichoderma* №№ 8–13 подавляли рост колоний *Fusarium* sp. 84 (2), *Fusarium* sp. 1 – 01 – a, *Fusarium* sp. *fragaria*, *Fusarium* sp. 59 (2), *Alternaria alternata*. Более эффективно подавляет рост перечисленных фитопатогенов штаммы *Trichoderma* №№ 8, 10, 11, 12, 13, которые кроме указанных фитопатогенов активно снижают скорость роста колоний *Fusarium sporotrichioides* БР – 1 – 1. Наименьшую активность подавления изучаемых штаммов фитопатогенов по результатам наших опытов проявлял штамм *Trichoderma* № 9, который в отношении одного фитопатогена оказался не эффективными: *Fusarium sporotrichioides* БР – 1 – 1 (рис. 6). Биологическая эффективности вышеперечисленных штаммов *Trichoderma* sp. и уровень ее биоконтролирующих свойств находится в пределах от 31 до 98 %. Наши исследования показывают, что в отношении *Fusarium sporotrichioides* БР-1-1 штамм *Trichoderma* sp. №9 не оказывал биоконтролирующих свойств – т.е. не подавлял его роста.

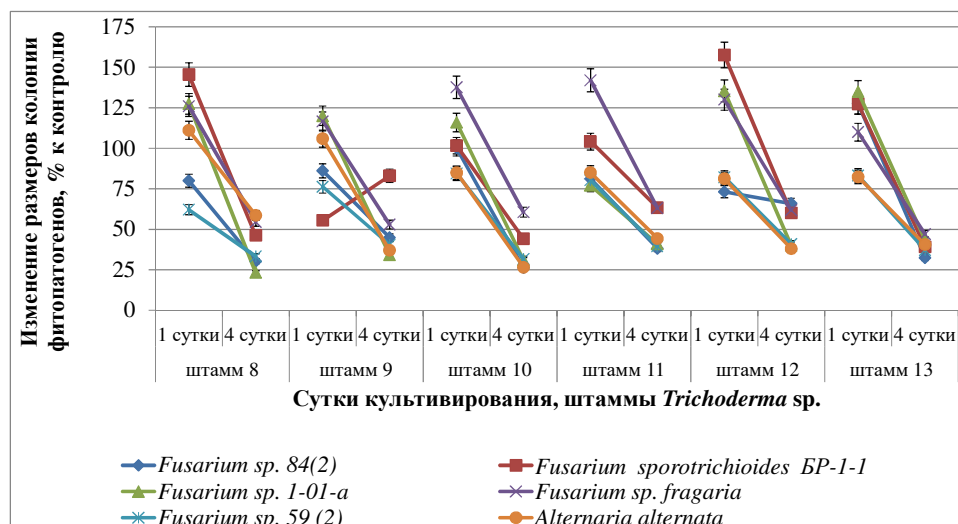


Рис. 6. Изменение размеров (индекс прироста) колоний фитопатогенных микромицетов при совместном культивировании с новыми штаммами *Trichoderma* sp. №№ 8–13.

Как показали проведенные исследования фунгистатической активности новых штаммов *Trichoderma* sp. в отношении представителей рода *Fusarium* и *Alternaria alternata*, штаммы *Trichoderma* №№ 14–19 подавляли рост колоний *Fusarium* sp. 84 (2), *Fusarium* sp. 1 – 01 – а, *Fusarium* sp. *fragaria*, *Fusarium* sp. 59 (2) и *Alternaria alternata*. Все перечисленные штаммы эффективно подавляют рост, указанных фитопатогенов (рис. 7). Как показывает анализ данных биологической эффективности вышеперечисленных штаммов *Trichoderma* sp. уровень биоконтролирующих свойств их высокий – и находится в пределах от 44 до 96 %.

Исследование фунгистатической активности новых штаммов *Trichoderma* sp. в отношении представителей рода *Fusarium* и *Alternaria alternata*, штаммы *Trichoderma* №№ 20, 21 подавляли рост колоний *Fusarium* sp. 84 (2), *Fusarium* sp. 1 – 01 – а, *Fusarium* sp. *fragaria*, *Fusarium* sp. 59 (2) и *Alternaria alternata*. Все перечисленные штаммы эффективно подавляют рост, указанных фитопатогенов (рис. 8). Как показывает анализ данных биологической эффективности вышеперечисленных штаммов *Trichoderma* sp. уровень их биоконтролирующих свойств находится в пределах от 43 до 99 %.

В отношении представителей рода *Aspergillus* и *Penicillium viridicatum*, штаммы *Trichoderma* №№ 1–7 подавляли рост колоний *Aspergillus flavus* R. В отношении изменения размеров колонии патогенного микромицета *Penicillium viridicatum*, штамм *Trichoderma* №1 практически не оказывал задерживающего действия: изменение площади колонии фитопатогена при совместном культивировании *Trichoderma* sp. №1 практически не изменяется. Но при этом, данный штамм *Trichoderma* проявляет довольно высокую биологическую эффективность – подавляет рост изучаемого штамма *Penicillium viridicatum* на 76 % относительно

контроля. Биологическая эффективности вышеперечисленных штаммов *Trichoderma* sp. уровень биоконтролирующих свойств находится в пределах от 73 до 97 %.

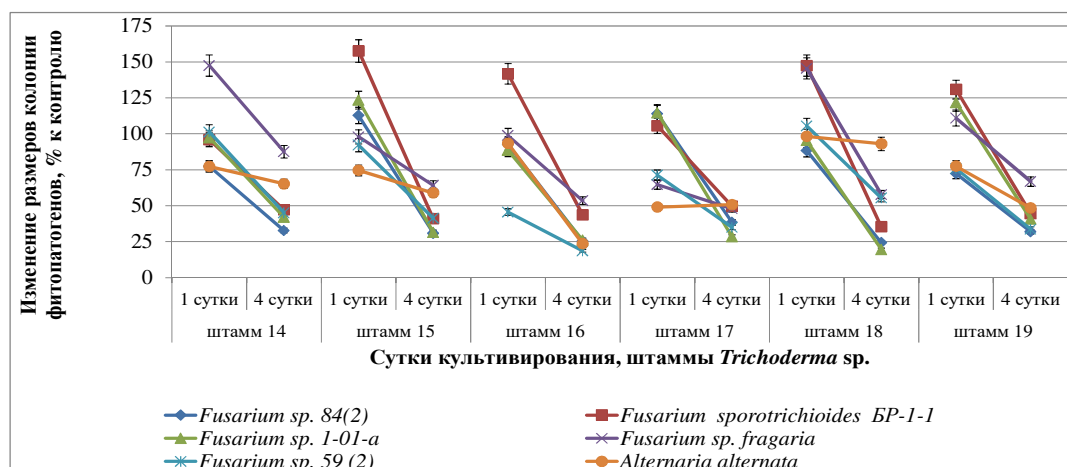


Рис. 7. Влияние новых штаммов *Trichoderma* sp. №№14–19 на изменение размеров (индекс прироста) колоний фитопатогенных микромицетов при совместном культивировании.

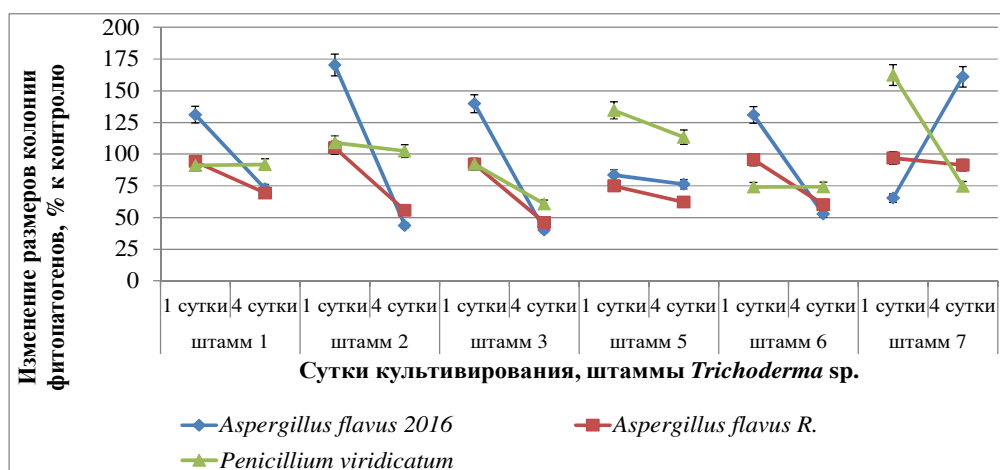


Рис. 8. Влияние новых штаммов *Trichoderma* sp. №№1–7 на изменение размеров (индекс прироста) колоний фитопатогенных микромицетов при совместном культивировании.

Как показали проведенные исследования фунгистатической активности новых штаммов *Trichoderma* sp. в отношении представителей рода *Aspergillus* и *Penicillium*

viridicatum, штаммы *Trichoderma* №№ 8–13 подавляли рост колоний *Aspergillus flavus* R., *Aspergillus flavus* 2016 (рис. 8).

Более эффективно подавляет рост перечисленных фитопатогенов штаммы *Trichoderma* №№ 8–12, которые кроме указанных фитопатогенов активно снижают скорость роста колоний *Penicillium viridicatum*. Наименьшую активность подавления изучаемых штаммов фитопатогенов по результатам наших опытов проявлял штамм *Trichoderma* № 13, который в отношении одного фитопатогена оказался не эффективными: *Penicillium viridicatum* (рис. 8). Биологическая эффективность вышеперечисленных штаммов *Trichoderma* sp. уровень биоконтролирующих свойств находится в пределах от 65 до 99 %.

Не эффективным оказался штамм *Trichoderma* sp. № 13 в отношении *Pen. viridicatum*. Индекс биологической эффективности *Trichoderma* sp. № 13 в отношении этого фитопатогена составил – 12 %).

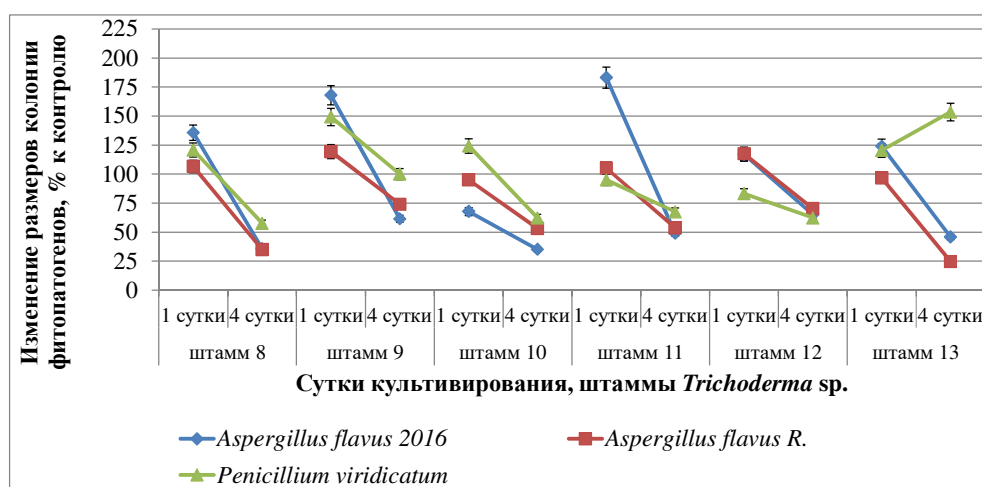


Рис. 9. Изменение размеров (индекса прироста) колоний фитопатогенных микромицетов при совместном культивировании с новыми штаммами *Trichoderma* sp. №8–13.

Как показали проведенные исследования фунгистатической активности новых штаммов *Trichoderma* sp. в отношении представителей рода *Aspergillus* и *Penicillium viridicatum*, штаммы *Trichoderma* №№ 14–19 подавляли рост колоний *Aspergillus flavus* R., *Aspergillus flavus* 2016, *Penicillium viridicatum*. Все перечисленные штаммы эффективно подавляют рост, указанных фитопатогенов. Биологическая эффективность вышеперечисленных штаммов *Trichoderma* sp. уровень биоконтролирующих свойств находится в пределах от 61 до 98 %.

Таким образом, биологическая эффективность и способность подавлять рост колоний фитопатогенных микромицетов родов *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* у новых штаммов триходермы различаются. Штаммы *Trichoderma* №№ 1, 3, 5, 20, 21 кроме фитопатогенов *Fusarium* sp. 81(1), *Fusarium* sp. MO 1-01a,

Penicillium sp. 173(2), *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus clavatus* активно снижают скорость роста колоний *Aspergillus fumigatus* 97 (1). Более эффективно подавляет рост фитопатогенов *Fusarium sp. 84(2)*, *Fusarium sp. 1-01-a*, *Fusarium sp. fragaria*, *Fusarium sp. 59 (2)*, *Alternaria alternata* штаммы *Trichoderma* №№ 8, 10, 11, 12, 13, которые кроме указанных фитопатогенов активно снижают скорость роста колоний *Fusarium sporotrichioides* БР – 1 – 1. Также стоит отметить, по результатам данного исследования штаммы *Trichoderma* №№ 8–12, которые кроме таких фитопатогенов как *Aspergillus flavus* 2016, *Aspergillus flavus* R., активно снижают скорость роста колоний *Penicillium viridicatum*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Предложено два варианта оценки антагонистической (биологической, биоконтролирующей) активности штаммов триходермы:
 - а). Индекс изменения (I_p) размеров колонии фитопатогена относительно контрольного варианта его выраживания в отсутствие триходермы, рассчитанный на первые и четвертые сутки культивирования дает возможность графически выразить направленность взаимодействия фитопатогенных микромицетов и триходермы, с целью отбора эффективно подавляющих штаммов триходермы.
 - б). Индекс биологической эффективности (B_E) позволяющий количественно оценить антагонизм отдельных штаммов триходермы с целью отбора наиболее эффективного штамма.
2. Биологическая эффективность и способность подавлять рост колоний фитопатогенных микромицетов родов *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* у новых штаммов триходермы различаются.

Работа выполнена на оборудовании ЦКП «Экспериментальная физиология и биофизика».

Список литературы

1. Guo R. Structures and Biological Activities of Secondary Metabolites from *Trichoderma harzianum* / Guo R., Li G., Zhang Z., Peng X. // Mar Drugs. – 2022. – № 20(11). – P. 701.
2. Kredics L. A challenge to mushroom growers: the green mould disease of cultivated champignons. / Kredics L., Jimenez G. L., Naeimi S., Czifra D., Urban P., Manczinger L. et al. // In: Current research, technology and education topics in applied microbiology and micro-bial biotechnology. Mendez-Vilas A. (ed.). FORMA-TEX. – 2010. – P. 295–305.
3. Vinale F. *Trichoderma* secondary metabolites that affect plant metabolism / Vinale F., Sivasithamparam K., Ghisalberti E. L., Ruocco M., Wood S., Lorito M. // Nat Prod Commun. – 2012. – № 7(11). – P. 1545–1550.
4. Peterson R. *Trichoderma reesei* RUT-C30--thirty years of strain improvement / Peterson R., Nevalainen H. // Microbiology (Reading). – 2012 – № 158(Pt 1). – P. 58–68.
5. Сидякин А. И. Оценка биологической эффективности (стимулирующих и биоконтролирующих свойств) биопрепарата Трихоплант / А. И. Сидякин, В. А. Филоненко // Перспективы использования инновационных форм удобрений, средств защиты и регуляторов роста растений в агротехнологиях сельскохозяйственных культур: Материалы докладов участников 9-ой научно-

- практической конференции «Анапа-2016». Под ред. акад. РАН В.Г. Сычева. М.: ВНИИА, 2016. – С. 127.
6. ГОСТ 12044-93. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения зараженности болезнями. // В Сб. Семена сельскохозяйственных культур. Методы анализа: Сб. ГОСТов. – М.: ИПК Издательство стандартов, М.: Стандартиформ, 2011. – С.162.
 7. Лягушина О. А., Сидякин А. И. Биопрепарат для стимуляции роста растений и их защиты от фитопатогенов на основе штаммов *Trichoderma*, штаммы *Trichoderma* для его производства (варианты), способ получения биопрепарата на основе таких штаммов // Бюл. № 35 19.06.2013. US 2004/0176249 A1, 09.09.2004. RU 2035145 C1, 20.05.1995. Опубликовано: 10.01.2017 Бюл. № 1
 8. Методические указания по регистрационным испытаниям фунгицидов в сельском хозяйстве / Под ред. член.-корр. Россельхозакадемии В. И. Долженко. – М.: Всероссийский НИИ защиты растений (ВИЗР), 2009. – 378 с.

A NEW APPROACH TO DETERMINING THE BIOCONTROLLING EFFICACY OF MICROMYCETE STRAINS ON THE EXAMPLE OF *TRICHODERMA* SP.

Sidyakin A. I., Chmelyova S. I., Dzheldubaeva E. R., Tumanyants K. N., Belousov V. V.

*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia
E-mail: acid2302@mail.ru*

The article describes a new modification of the approach to the study of the antagonistic activity of microorganisms on the example of *Trichoderma longibrachiatum* GF 2/6, J2 30 Brz and Za 3/19 GF and various phytopathogenic micromycetes. Based on the study of the antagonistic activity of twenty-one new strains of *Trichoderma* against fifteen strains of phytopathogenic fungi, using a modified method of perpendicular strokes and the use of Henderson-Tilton formulas to calculate the biological efficacy of the strain in suppressing pathogens, as well as the pathogen growth suppression index, new highly effective strains of *Trichoderma* were selected that suppress the growth of a wide range of pathogens of various mycoses of plants. It is shown that the biological efficacy and ability to inhibit the growth of colonies of phytopathogenic micromycetes of the genera *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* in new strains of *Trichoderma* varies. Strains of *Trichoderma* Nos 1, 3, 5, 20, 21 except phytopathogens *Fusarium* sp. 81(1), *Fusarium* sp. MO 1-01a, *Penicillium* sp. 173(2), *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus clavatus* actively reduce the growth rate of colonies of *Aspergillus fumigatus* 97 (1). *Trichoderma* strains Nos 8, 10, 11, 12, 13 inhibits more effectively the growth of phytopathogens *Fusarium* sp. 84(2), *Fusarium* sp. 1-01-a, *Fusarium* sp. fragaria, *Fusarium* sp. 59 (2), *Alternaria alternata*, and, in addition to these phytopathogens, actively reduce the growth rate of colonies of *Fusarium sporotrichioides* BR - 1 - 1. Strains of *Trichoderma* Nos 8, 10, 11, 12, 13, inhibits more effectively the growth of phytopathogens *Fusarium* sp. 84(2), *Fusarium* sp. 1-01-a, *Fusarium* sp. fragaria, *Fusarium* sp. 59 (2), *Alternaria alternata*, and, in addition to these phytopathogens, actively reduce the growth rate of colonies of *Fusarium sporotrichioides* BR - 1 - 1. Thus, the paper proposes two options for assessing the antagonistic (biological, biocontrol) activity of *Trichoderma* strains: the index of change in the size of the phytopathogen colony of the control variant

of its cultivation in the absence of *Trichoderma*, calculated on the first and fourth days of cultivation in order to select effectively suppressing strains of *Trichoderma*; the biological efficacy index allows to quantify the antagonism of individual strains of *Trichoderma* in order to select the most effective strain.

Keywords: micromycetes, *Trichoderma*, biological efficacy, phytopathogenic fungi.

References

1. Guo R., Li G., Zhang Z., Peng X. Structures and Biological Activities of Secondary Metabolites from *Trichoderma harzianum*, *Mar Drugs.*, **20(11)**, 701 (2022).
2. Kredics L., Jimenez G. L., Naeimi S., Czifra D., Urban P., Manczinger L. A challenge to mushroom growers: the green mould disease of cultivated champignons. In: *Current research, technology and education topics in applied microbiology and micro-bial biotechnology*, 295 (Mendez-Vilas A. (ed.). FORMA-TEX Publ.; 2010).
3. Vinale F., Sivasithamparam K., Ghisalberti E.L., Ruocco M., Wood S., Lorito M. *Trichoderma* secondary metabolites that affect plant metabolism, *Nat Prod Commun.*, **7(11)**, 1545 (2012).
4. Peterson R., Nevalainen H. *Trichoderma reesei* RUT-C30--thirty years of strain improvement, *Microbiology* (Reading), **158(Pt 1)**, 58 (2012).
5. Sidyakin A. I., Filonenko V. A. Otsenka biologicheskoy effektivnosti (stimuliruyushchikh i biokontroliruyushchikh svoystv) biopreparata Trikhoplant, *Perspektivy ispol'zovaniya innovatsionnykh form udobreniy, sredstv zashchity i regulatorov rosta rasteniy v agrotekhnologiyakh sel'skokhozyaystvennykh kul'tur*: Materialy докладов участников 9-oy nauchno-prakticheskoy konferentsii «Anapa-2016». Pod red. akad. RAN VG Sycheva, 127 (M.: VNIIA Publ., 2016).
6. GOST 12044-93. Semena sel'skokhozyaystvennykh kul'tur. Metody opredeleniya zarazhennosti boleznymi, V Sb. *Semena sel'skokhozyaystvennykh kul'tur. Metody analiza*: Sb. GOSTov., 162 (M.: IPK Izdatel'stvo standartov, M.: Standartinform, 2011).
7. Lyagushina O. A., Sidyakin A. I. Biopreparat dlya stimulyatsii rosta rasteniy i ikh zashchity ot fitopatogenov na osnove shtammov *Trichoderma*, shtammy *Trichoderma* dlya ego proizvodstva (varianty), sposob polucheniya biopreparata na osnove takikh shtammov, *Byul.* № 35 19.06.2013. US 2004/0176249 A1, 09.09.2004. RU 2035145 C1, 20.05.1995. Opublikovano: 10.01.2017 Byul. № 1
8. Metodicheskie ukazaniya po registratsionnym ispytaniyam fungitsidov v sel'skom khozyaystve/ Pod red.chlen.-korr. Rossel'khozakademii V. I. Dolzhenko, 378 (M.: Vserossiyskiy NII zashchity rasteniy (VIZR) Publ., 2009).