

## ХИМИЯ CHEMISTRY

УДК 579.64

**Шпота Е.Л.,**  
научный сотрудник  
**Шпота Е.Л.,**  
илимий кызматкер  
**Shpota E.L.**  
scientific researcher

**Гуцалюк Н.В.,**  
научный сотрудник  
**Гуцалюк Н.В.,**  
илимий кызматкер  
**Gutsalyuk N.V.**  
scientific researcher

**Джуманазарова А.З.,**  
доктор химических наук, профессор,  
**Джуманазарова А.З.,**  
химия илимдеринин доктору, профессор  
**Dzhumanazarova A.Z.**  
doctor of chemical sciences, professor

*Институт Химии и фитотехнологии НАН КР*  
*КР УИАнын Химия жана фитотехнология институту*  
*Institute of Chemistry and fitotechnology NAS KR*

**ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОМИЦЕТОВ РОДА *TRICHODERMA* НА АНТАГОНИЗМ  
К *FUSARIUM SP.* ИЗ ПОРАЖЕННОГО СУХОЙ ГНИЛЬЮ КАРТОФЕЛЯ**

**КАРТОШКАНЫН КУРГАК ЧИРИГИНДЕГИ *FUSARIUM SP.* ГА  
*TRICHODERMA* ТУКУМУНДАГЫ МИКРОМИЦЕТТЕРИНИН  
АНТАГОНИЗМИН ИЗИЛДӨӨ**

**STUDY OF MICROMYCETES OF THE GENUS *TRICHODERMA*  
FOR ANTAGONISM TO *FUSARIUM SP.* FROM POTATOES AFFECTED  
BY DRY ROT**

**Аннотация.** С целью разработки биофунгицида против фузариоза картофеля были протестированы на антагонизм к *Fusarium sp.* 12 микромицетов рода *Trichoderma*, выделенных из разных древесных грибов. Фузарий был выделен из поражённого сухой гнилью картофеля. Для определения антагонизма каждого изолята триходермы к фузарию применялся метод «двойных культур» - выращивание триходермы совместно с фузарием в чашках Петри на агаре. Определены быстро растущие и подавляющие *Fusarium sp.* изоляты триходермы.

**Аннотация.** Картошканын фузариозуна каршы биофунгицидди иштеп чыгуу үчүн ар кандай дарак козу карындарынан бөлүнүп алынган *Trichoderma* тукумундагы 12 микромицеттер текшерилген. Фузарий кургак чириген картошкадан бөлүнүп алынган. Триходерманын ар бир изолятынын фузарийге антагонизмин аныктоо үчүн «кош культуралар» ыкмасы колдонулду – триходерманы фузарий менен бирге Петри табакчаларында агарда өстүрүү. Тез өсүүчү жана *Fusarium sp.* басуучу триходерма изоляттары аныкталган.

**Abstract.** In order to develop a biofungicide against potato Fusarium, 12 micromycetes of the genus *Trichoderma* isolated from various wood fungi were tested for antagonism to *Fusarium sp.* Fusarium was isolated from potatoes affected by dry rot. To determine the antagonism of each trichoderm isolate to fusarium, the method of “double cultures” was used - growing trichoderm together with fusarium in Petri dishes on agar. Fast-growing and suppressing *Fusarium sp.* trichoderm isolates were identified.

**Ключевые слова:** антагонизм, патоген, *Trichoderma*, *Fusarium*.

**Негизги сөздөр:** антагонизм, патоген, *Trichoderma*, *Fusarium*.

**Keywords:** antagonism, pathogen, *Trichoderma*, *Fusarium*

В настоящее время в борьбе с фитопатогенными микроорганизмами в почве и на растениях, а также для ускорения компостирования широко используются биопрепараты на основе микромицетов рода *Trichoderma*, которые быстро размножаются в условиях культуры, выделяют множество активных веществ, антибиотиков, ряд гидролитических ферментов. Виды триходермы не вызывают заболеваний у растений, животных и человека, так как являются сапрофитами - могут размножаться только на мёртвых растительных остатках или других грибах.

Род *Trichoderma* широко изучался на способность противостоять растительным патогенным грибам, и его механизмы биоконтроля включают более высокую скорость роста по сравнению с патогеном, выработку антибиотиков для конкуренции за питательные вещества и жизненное пространство с патогенами, микопаразитизм с выработкой ферментов, разрушающих клеточную стенку патогенов и способность индуцировать защитную систему растений [1].

В связи с тем, что микромицеты этого рода из разных мест обитания могут иметь особые свойства, важной задачей является поиск новых местных штам-

мов *Trichoderma* и создание на их основе эффективных биопрепаратов.

Картофель широко используется в Кыргызстане как продукт питания, но большей частью продовольственный картофель повреждён грибом-микромицетом фузарием, вызывающим гниль клубней в хранилищах, где происходит заражение от больных клубней, инфицированных ещё в поле. При хранении на клубнях картофеля развивается фузариозная сухая гниль, достигая максимума к концу периода хранения. При высадке заражённых клубней происходит инфицирование новых растений. При сильном распространении фузариоз может снизить урожайность картофеля на 40 %. Биологические методы защиты растений на основе биопрепаратов стали популярны во всём мире благодаря возможности контролировать развитие заболеваний без применения средств химической защиты или значительном их сокращении [1].

Цель данной работы – исследование местных изолятов триходермы на скорость роста и оценка их антагонистических свойств по отношению к фузарию, выделенного из картофеля. В перспективе рассматривается применение полученных

антагонистов в создании безопасных био-фунгицидов, которые могут быть использованы для обработки клубней в картофелехранилищах и почвы под картофель для уменьшения рисков заражения фузариозом.

### Методы исследования

Изолят фузария *Fusarium sp.* был выделен из поражённого сухой гнилью клубня картофеля. Изоляты триходермы получены из древесных грибов и первоначально отобраны по скорости роста на агаре Чапека. Принадлежность изолятов к родам фузариум и триходерма выросших на агаре Чапека определялась под микроскопом по характерным для этих родов строению конидиеносцев и конидий.

Для определения антагонистической активности по отношению к *Fusarium sp.* все отобранные изоляты триходермы выращивались в двойной культуре с фузариумом на агаре Чапека и картофельном агаре (PDA) при комнатной температуре +20 °С (первая серия опытов) и при температуре от +13°С до +17 °С на PDA (вторая серия опытов). Стерилизация сред проводилась в автоклаве 30 минут при давлении 1 атмосфера.

В чашки Петри диаметром 9 см с агаром с помощью микробиологической петли наносились диаметрально противоположно споры и частички мицелия – фузария с одной стороны и триходермы – с другой. Далее проводилось сравнение роста фузария и культур 12 изолятов триходермы на агаре Чапека и PDA.

### Результаты и обсуждение

#### Деление культур триходермы по механизмам подавления фузария.

Изоляты триходермы по мере роста при температуре +20°С (первая серия опытов) показали отличия в механизме подавления

фузария, по которым мы смогли предварительно разделить их на две группы (таблица 1).

**1-я группа изолятов триходермы** (левая половина таблицы 1) быстро подавляла развитие фузария, конкурируя за питательные вещества и пространство и нарастая на колонию фузария. На обратных сторонах чашек видно, что жёлто-коричневые колонии фузария значительно меньше, чем колонии фузария второй группы.

**2-я группа культур триходермы** (правая половина таблицы 1) проявила ярко выраженный микопаразитизм. Культуры этой группы изолятов триходермы нарастали на колонии фузария, но не сильно подавляли его рост. Фузариум продолжал развиваться и после захвата триходермой его колонии, образуя белый мицелий вокруг, что особенно хорошо видно через три недели культивирования.

#### Развитие культур при разных температурах

Сравнение 12 культур триходермы первой (растущих при температуре +20°С) и второй (при температурах от +13 до +17°С) серий опытов показало значительное отставание в скорости роста всех культур при пониженных температурах по сравнению с ростом в более тёплых условиях.

Рост фузария и триходермы при +20°С начинался на вторые сутки. При этой температуре рост всех культур был интенсивный, и на 10-е сутки все культуры триходермы заняли пространства своих чашек, ограничивая рост фузария, но по-разному подавляя его. Наибольшую скорость роста показал изолят №2, который через 3 дня после инокуляции занял более 90% чашки Петри. На рисунке 1 показана разница в росте этого изолята при разных температурах.



*Рис.1. Развитие триходермы и фузария при разных температурах.*

*Слева направо: 1 - колонии триходермы изолята №2 и фузария при +20°C; 2 - колонии триходермы и фузария при +13°C; 3 - отдельная колония триходермы изолята №2 при +13°C; 4 - отдельная колония фузария, выросшая при +13°C. Возраст культур - 10 суток.*

Триходерма образует конидии белого, зелёного, жёлтого цветов по мере их созревания. При температуре +13°C (вторая серия опытов) рост всех культур стал заметен на третьи сутки. На 10-е сутки в чашках с культурами изолятов 1-й группы вырос

радиальный рыхлый мицелий триходермы. Наибольшую скорость роста и при пониженной температуре показала культура изолята №2 (рис.1). Культуры триходермы изолятов 2-й группы при +13°C образовали более плотные колонии меньшего диаметра (рис.2).

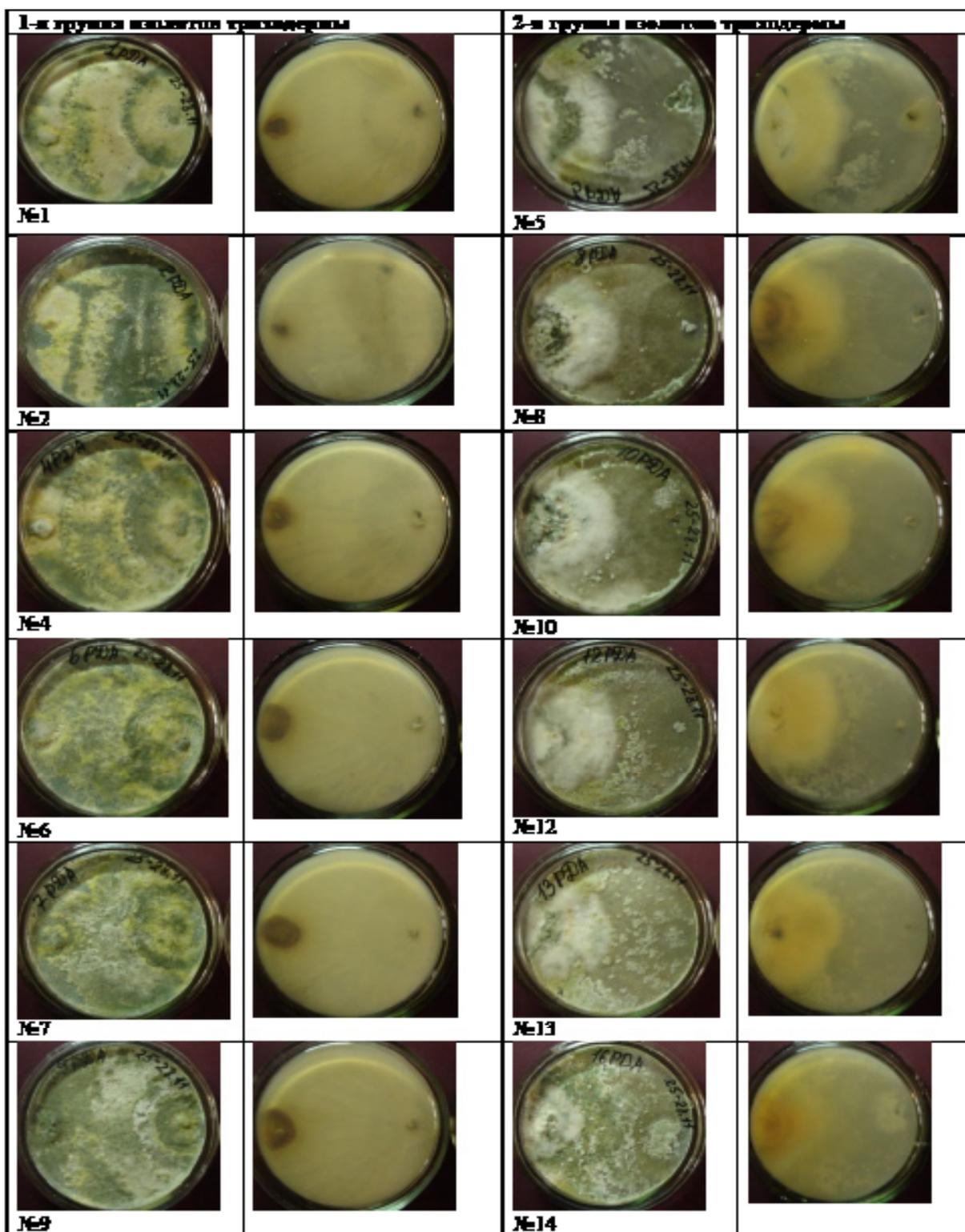


*Рис.2. Колонии фузария и триходермы в культурах: 1-й группы - изолят №9 и 2-й группы - изолят №10 (фото справа). Фузариий растёт по левые стороны чашек. +13°C возраст культур -10 суток.*

Различия между двумя группами триходермы по характеру подавления фузария стали особенно видны через три недели

культивирования. В таблицах 1 и 2 представлены фото 25-суточных культур изолятов триходермы и фузария, растущих при разных температурах (две серии опытов).

**Таблица 1. Две группы двойных культур изолятов триходермы с разным механизмом подавления фузария рост при +20 °С. Возраст – 25 суток**



При росте культур от +13 °С до +17°С на 25 сутки отличия между двумя группами изолятов триходермы также стали более чёткими (таблица 2). Как и при +20°С, 1-я

группа изолятов триходермы показала более быстрый рост по сравнению со 2-й группой. В 1-й группе, впереди растущей триходермы проявлялась быстро зарастающая прозрачная зона подавления.



**Рис.3** Проявление прозрачной зоны подавления при пониженных температурах у изолята триходермы №7. Слева – 17 суток. Справа – 40 суток

В культуре изолята №7 дольше чем у остальных культур оставалась прозрачная зона подавления роста, возможно за счёт выделения микотоксинов. В других культурах эта зона исчезала быстрее, зарастая мицелием триходермы. Сходные результаты указаны в работах [2, 3].

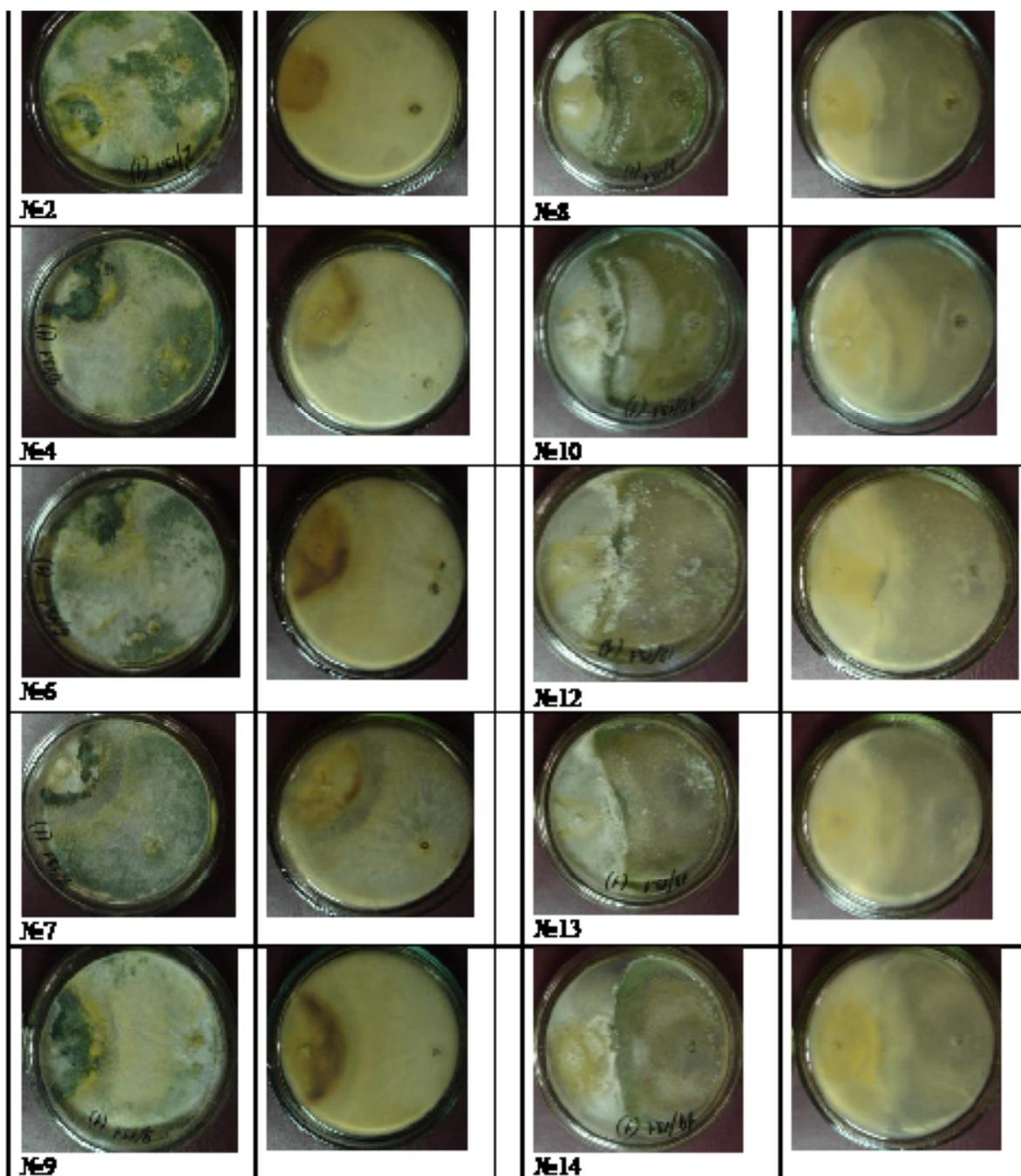
Кроме того, наблюдалось более сильное, чем при +20°С зарастание колоний фузария зелёными конидиями, что видно по левые стороны чашек.

Изоляты триходермы 2-й группы при пониженных температурах также показали отличия в развитии и подавлении фузария по сравнению с ростом при +20°С. В та-

блице 2 (правая половина) представлены фото, показывающие, что триходерма росла на границе колонии фузария, образуя полосы разной ширины и интенсивности у представленных культур. Изолят №5 показал прозрачную полосу подавления, более выраженную, чем у других изолятов этой группы, и наиболее сильно подавлял рост фузария. Другие изоляты триходермы этой группы (№8,10,12,13,14) фузарий подавляли не полностью, происходил его дальнейший рост за пределами колонии, но с меньшей интенсивностью, чем при +20°С. Колонии фузария на всех фото расположены на левой стороне чашек Петри, триходерма – на правой.

**Таблица 2.** Две группы двойных культур изолятов триходермы с разными мезофильными подавителями фузария рост при +13, +17 С. Возраст – 25 суток

1-я группа изолятов триходермы		2-я группа изолятов триходермы	
			
№1		№5	



Быстрый рост изолятов *Trichoderma* даёт преимущество в подавлении роста патогенов, конкурируя за пространство и питательные вещества еще до того, как они выделяют микотоксины, что было характерно для 1-й группы изолятов при +20°C. Обильное образование конидий, наблюдаемое в чашках Петри - это свидетельство микопаразитизма, который является одним из механизмов подавления у видов *Trichoderma* sp. [3].

Из многочисленных исследований известно, что виды *Trichoderma* обычно используют множество механизмов биоконтроля для подавления растительных патогенных грибов [4].

#### Заключение

Проведённые исследования показали, что быстро растущие изоляты триходермы обладают преимуществом в подавлении фу-

зария, так как побеждают в конкуренции за питательные вещества и пространство. Чем выше температура, тем быстрее развивается триходерма и подавляет развитие фузария. Самое быстрое развитие было у изолята №2 при всех температурах и соответственно – наилучшее подавление фузария.

При пониженных температурах проявились способности культур изолятов 1-й группы выделять микотоксины (образовывать зоны подавления фузария).

Один изолят триходермы 2-й группы (№5) подавлял рост фузария при пониженных температурах, образуя интенсивную полосу зелёных конидий на границе с фузарием после выделения микотоксинов (прозрачная зона). При +20°C этот же изолят проявил микопаразитизм, но слабо подавлял развитие фузария, как и остальные изоляты этой группы.

### Литература

1. Алимова Ф.К. Промышленное применение грибов рода *Trichoderma*. Ф.К.Алимова. – Казань: Казанский государственный университет им.В.И.Ульянова-Ленина, – 2006. – 209с.
2. Бекмаханова Н.Е., Момбекова Г. А., Шемшура О.Н., Сейтбатталова А.И. Вестник КазНУ. Серия биологическая. №3 (65). –2015. –179-183с.
3. Ann Jhudeil C. Santos, Cynthia C. Divina<sup>1</sup>, Federico G. Pineda<sup>1</sup> and Lani Lou Mar A. Lopez. International Journal of Agricultural Technology –2017. Vol. 13(7.3): – 2539-2548.
4. Dugassa et al. Alemayehu Dugassa<sup>1</sup>, Tesfaye Alemu and Yitbarek Woldehawariat BMC Microbiology (2021) 21:115.

Культуры триходермы у подавляющего большинства исследователей выращивались в термостатах при температуре 25°C или выше. Нами проведены исследования роста триходермы при более низких и меняющихся температурах в комнатных условиях, более близким к природным условиям весной и осенью. Кроме того, низкие температуры в картофелехранилищах требуют для биоконтроля фузариоза штаммов триходермы, способных развиваться при пониженных температурах. Температура влияет на развитие триходермы в большей степени, чем на развитие фузария, используемого в данных экспериментах.

Мы пришли к заключению, что выделенные нами изоляты триходермы используют разные механизмы подавления фузария при разных температурах роста.