

## АКТИВНОСТЬ ГРИБОВ РОДА *TRICHODERMA*, ВЫДЕЛЕННЫХ В ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ, ПРОТИВ ФИТОПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

© 2024 г. В. Е. Кузнецова<sup>а, \*</sup>, Е. А. Матвеева<sup>а</sup>, Л. А. Беловежца<sup>а</sup>

<sup>а</sup>Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН, Иркутск, 664033 Россия

\*e-mail: uchiha-viksya@mail.ru

Поступила в редакцию 13.10.2023 г.

После доработки 30.10.2023 г.

Принята к публикации 01.11.2023 г.

*Trichoderma* является важным антагонистом патогенных грибов и может быть использована в сельском хозяйстве для борьбы с различными заболеваниями растений. В ходе данной работы были выделены 2 микромицета со спилов древесины в Восточной Сибири, которые по морфологическим и молекулярно-генетическим признакам идентифицированы как *Trichoderma atroviride* и *Trichoderma harzianum*. Выделенные штаммы *Trichoderma* эффективно подавляют развитие исследуемых патогенных грибов (до 80%). Представленные в работе данные позволяют сделать вывод о возможности использования *Trichoderma atroviride* и *Trichoderma harzianum* в дальнейшем изучении средств биоконтроля болезней растений.

**Ключевые слова:** микроорганизмы-антагонисты, *Trichoderma*, фитопатогены, биоконтроль

DOI: 10.31857/S0026365624020123

Во всем мире основные потери сельскохозяйственной продукции связаны с болезнями растений, причем около половины из них ассоциированы с микроскопическими грибами. Используемые на данный момент химические фунгициды токсичны (Kekalo et al., 2023), и их применение приводит к негативным последствиям, загрязнению окружающей среды, возрастанию резистентности возбудителей (Jiang et al., 2022, Rola et al., 2023). Для решения этой проблемы исследуются биологические альтернативы (Naghi et al., 2023). Особый интерес представляют грибы рода *Trichoderma*, обладающие потенциалом для защиты от ряда грибковых заболеваний у сельскохозяйственных культур (Ilescas et al., 2022; Putranto et al., 2021).

*Trichoderma* — распространенный сапрофитный гриб, обитающий в почве (Kumar et al., 2021), который широко используется в качестве агента биологической борьбы с различными болезнями растений (Arasu et al., 2023; Guzmán-Guzmán et al., 2023). Он способен к продукции антибиотиков, выработке гидролитических ферментов, разрушающих клеточные стенки и споры патогенных грибов (Lyubchenova et al., 2023). Кроме того, при колонизации корней *Trichoderma* способна смягчать абиотические стрессы. Это происходит за счет повышения глобальной устойчивости растений (Narman et al., 2019). *Trichoderma* может использоваться в качестве биопрепарата на разных стадиях роста

растений. При обработке семян микроорганизм способствует улучшению их всхожести (Pani et al., 2021), а в фазу роста растений позволяет уменьшить инфекционную нагрузку, повысить иммунитет растений и улучшить качество урожая.

Целью данного исследования было изучение антагонистических взаимодействий двух микромицетов рода *Trichoderma*, выделенных со спилов древесины в Восточной Сибири, и фитопатогенных грибов.

Объектами служили культуры фитопатогенных грибов: *Fusarium (orthoceras) oxysporum* F-845, *Alternaria botrytis* F-737, *Stemphylium botryosum* F-3044, *Phytophthora drechsleri* F-3149 (предоставлены ВКМ, г. Пушино; <http://www.vkm.ru/rus>), *Trichoderma harzianum* и *Trichoderma atroviride*, выделенные нами из зараженной древесины. Культуры идентифицированы на основе анализа последовательности рибосомальных генов (26-sRNA) (ВКПМ, г. Москва) (<https://vkpm.genetika.ru>). Антагонистическую активность *Trichoderma* против фитопатогенов тестировали *in vitro* методом встречных культур в 5 повторностях на картофельно-глюкозном агаре (г/л): картофель 200, глюкоза 20, агар 20 г. Контролем служила монокультура гриба. Все варианты инкубировали в чашках Петри в термостате при 27°C в течение 7 сут. По окончании эксперимента производили измерение радиального

роста антагонистов и фитопатогенов (Guzmán-Guzmán et al., 2023).

Для корректной оценки антагонистической активности было проведено определение скорости роста каждой культуры (рис. 1).

Максимальной скоростью роста обладала *Ph. drechsleri* (в экспоненциальной фазе роста 37.23 мм/сут), уже на 4 сут она заполняла всю поверхность питательной среды. У *T. harzianum* и *T. atroviride* скорость роста была близка и составляла 17.38 и 19.85 мм/сут, соответственно. Самые медленно растущие культуры — *F. (orthoceras) oxysporum* — 10.56 мм/сут, *A. botrytis* — 8.87 мм/сут и *S. botryosum* — 10.22 мм/сут; к концу эксперимента площадь поверхности питательной среды, занятой данными культурами, не превышала половины. Интересно, что ярко выраженная лаг-фаза характерна только для *T. harzianum*.

Следующим этапом работы было определение антагонистической активности культур по проценту ингибирования радиального роста фитопатогенов (рис. 2).

Обе исследованные культуры эффективно (более чем на 50%) подавляли рост патогенов. Максимальное подавление характерно для *T. harzianum* против *F. oxysporum* и *A. botrytis* (более 80%). Следует отметить, что развитие колоний фитопатогенов идет примерно на одном уровне (рис. 3).

Интересно, что мицелий *T. harzianum* расположен поверх колоний патогенов (рис. 3а), а для *T. atroviride* характерна полоса чистого агара 3–8 мм, с последующим ростом на колонии патогена (рис. 3а). Это, вероятно, связано с продукцией *T. atroviride* антибиотиков (Manzar et al., 2022). Также можно отметить, что в двойных культурах патогены (*A. botrytis*, *S. botryosum*) не успевали синтезировать пигмент, что может свидетельствовать о замедлении роста культуры патогена, предположительно, связанного с синтезом *Trichoderma* хитиноподобных ферментов (Manzar et al., 2022).

Подавление роста *Ph. drechsleri* обоими антагонистами в первую неделю культивирования существенно ниже. *Ph. drechsleri*, как более быстро растущий микромицет, успевает колонизировать около 50% питательной среды до контакта

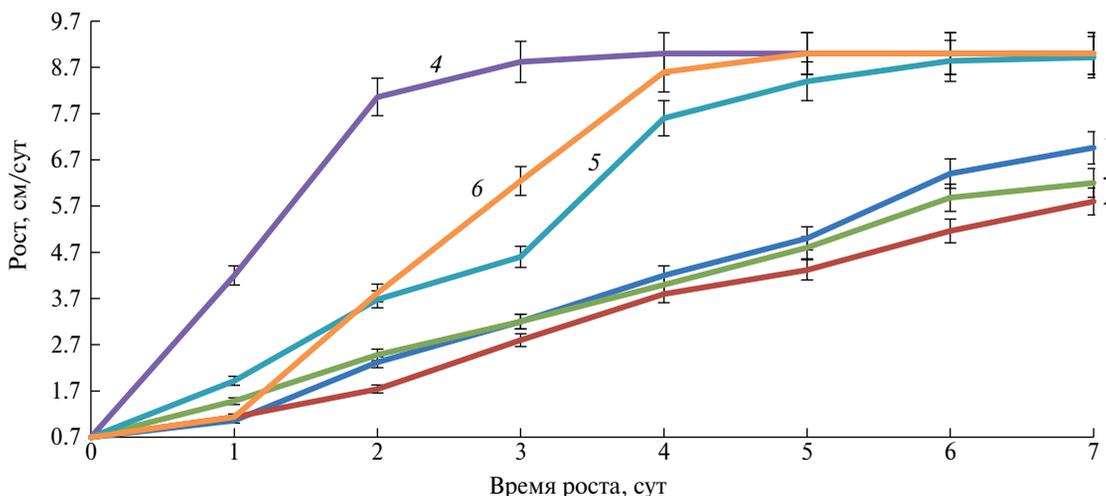


Рис. 1. Скорость роста микроорганизмов на плотной питательной среде (M ± с): 1 – *Fusarium (orthoceras) oxysporum*; 2 – *Alternaria botrytis*; 3 – *Stemphylium botryosum*; 4 – *Phytophthora drechsleri*; 5 – *Trichoderma atroviride*; 6 – *Trichoderma harzianum*.

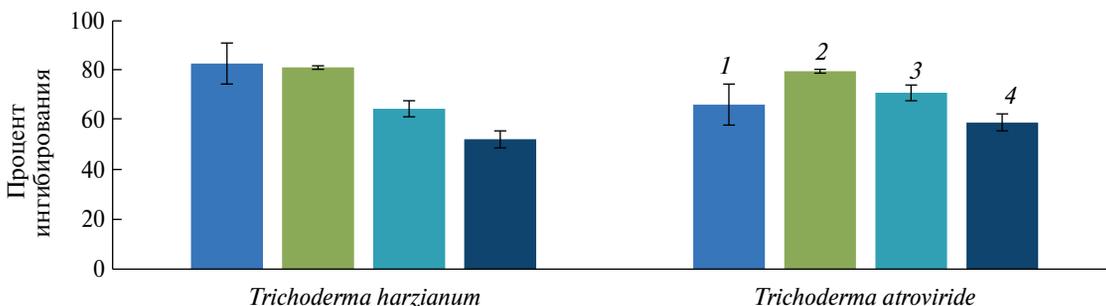
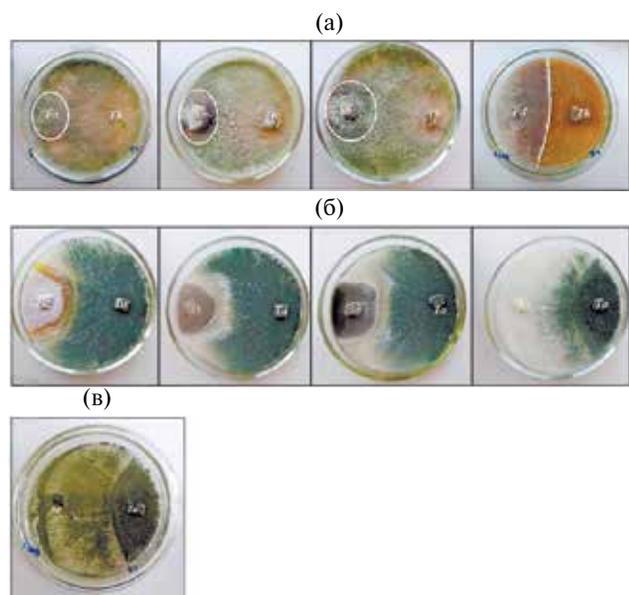


Рис. 2. Ингибирование радиального роста фитопатогена через 7 сут культивирования, %; (M ± с). 1 – *Fusarium (orthoceras) oxysporum*; 2 – *Alternaria botrytis*; 3 – *Stemphylium botryosum*; 4 – *Phytophthora drechsleri*.



**Рис. 3.** Антагонизм *in vitro*: ряд (а) справа (*Th*) *Trichoderma harzianum*; ряд (б) справа (*Ta*) *Trichoderma atroviride*, фитопатогены слева (*Fo*) *Fusarium (orthoceras) oxysporum*, (*Ab*) *Alternaria botrytis*, (*Sb*) *Stemphylium botryosum*, (*Pd*) *Phytophthora drechsleri* (возраст культур 7 сут); ряд (в) (*Pd*) *Phytophthora drechsleri* и (*Ta*) *Trichoderma atroviride*. Возраст культур 14 сут.

с антагонистом. Однако при более длительной инкубации (14 сут) поверхность фитопатогена оказывается покрыта мицелием и спорами *Trichoderma* (рис. 3с).

Таким образом, оба исследуемых штамма *Trichoderma* эффективно (на 52–82%) подавляют исследованные культуры фитопатогенов. Ингибирование *Ph. drechsleri* происходит с задержкой, связанной со скоростью роста патогена. Различия между штаммами *Trichoderma* в подавлении исследуемых патогенов связано с разнообразными стратегиями в подавлении фитопатогенов. Предположительно, *T. atroviride* способна к синтезу антибиотиков, а *T. harzianum* – хитинолитических ферментов (Manzar et al., 2022).

Представленные в работе данные позволяют сделать вывод о возможности использования в сельском хозяйстве *T. atroviride* и *T. harzianum* в качестве средств биологического контроля как для профилактики болезни, так и на начальном этапе заражения растений в отношении распространенных фитопатогенов.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ № 23-26-10008.

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит результатов исследований с использованием животных в качестве объектов.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Всероссийская коллекция микроорганизмов. [Электронный ресурс] URL: <http://www.vkm.ru/gus>. (дата обраш. 25.04.2023).

Научный центр “Курчатовский институт”. Научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов. [Электронный ресурс] URL: <https://vkpm.genetika.ru>. (дата обраш. 25.04.2023).

Arasu M.V., Vijayaraghavan P., Al-Dhabi N.A., Choi K.C., Moovendhan M. Biocontrol of *Trichoderma gamsii* induces soil suppressive and growth-promoting impacts and rot disease-protecting activities // J. Basic Microbiol. 2023. V. 63. P. 801–813.

<https://doi.org/10.1002/jobm.202300016>

Guzmán-Guzmán P., Kumar A., de los Santos-Villalobos S., Parra-Cota F.I., Orozco-Mosqueda Md.C., Fadji A.E., Hyder S., Babalola O.O., Santoyo G. *Trichoderma* species: our best fungal allies in the biocontrol of plant diseases — a review // Plants. 2023. V. 12. Art. 432.

<https://doi.org/10.3390/plants12030432>

Haghi Z., Mostowfizadeh-Ghalamfarsa R., Steinberg C. The efficacy of Iranian *Pythium oligandrum* isolates in biocontrol of soil-borne fungal pathogens of tomato // J. Plant Pathol. 2023. V. 105. P. 185–196.

<https://doi.org/10.1007/s42161-022-01245-5>

Harman G.E., Doni F., Khadka R.B., Uphoff N. Endophytic strains of *Trichoderma* increase plants' photosynthetic capability // J. Appl. Microbiol. 2019. V. 130. P. 529–546.

<https://doi.org/10.1111/jam.14368>

Illescas M., Morán-Diez M.E., Martínez de Alba Á.E., Hermosa R., Monte E. Effect of *Trichoderma asperellum* on wheat plants' biochemical and molecular responses, and yield under different water stress conditions // Int. J. Mol. Sci. 2022. V. 23. Art. 6782.

<https://doi.org/10.3390/ijms23126782>

Jiang F., Peng Ye., Sun Q. Pesticides exposure induced obesity and its associated diseases: recent progress and challenges // J. Future Foods. 2022. V. 2. P. 119–124.

<https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2022.03.005>

Kekalo A.Yu., Zargaryan N.Yu., Nemchenko V.V. Effectiveness of fungicidal protection of spring wheat against powdery mildew and tan spot // Siberian Herald of Agricultural Science. 2023. V. 53. № 1. P. 45–52.

<https://doi.org/10.26898/0370-8799-2023-1-6>

- Kumar J., Kumar M., Tomar A., Vaishali, Kumar P., Chand P. Morphological and molecular characterization of *Trichoderma* spp. from rhizosphere soil and their antagonistic activity against *Fusarium* spp. // Int. J. Plant Soil Sci. 2021. V. 33. P. 100–112.  
<https://doi.org/10.9734/ijpss/2021/v33i1930605>
- Lyubenova A., Rusanova M., Nikolova M., Slavov S.B. Plant extracts and *Trichoderma* spp.: possibilities for implementation in agriculture as biopesticides // Biotechnology and Biotechnological Equipment. 2023. V. 37. P. 159–166.  
<https://doi.org/10.1080/13102818.2023.2166869>
- Manzar N., Kashyap A.S., Goutam R.S., Rajawat M.V.S., Sharma P.K., Sharma S.K., Singh H.V. *Trichoderma*: Advent of versatile biocontrol agent, its secrets and insights into mechanism of biocontrol potential // Sustainability. 2022. V. 14. Art. 12786.
- Pani S., Kumar A., Sharma A. *Trichoderma harzianum*: an overview // Bull. Environ. Pharmacol. Life Sci. 2021. V. 10. № 6. P. 32–39.
- Putranto W.A., Nugroho R.A., Hardiyanta S.P., Cahyaningrum D.Ch. Are *Trichoderma atroviride* and *Trichoderma harzianum* effective to control *Fusarium* associated with tomato wilt? // Microbiology Indonesia. 2021. V. 15. № 3. P. 84–90.  
<https://doi.org/10.5454/mi.15.3.2>
- Rola K., Majewska E., Chowaniec K. Interaction effect of fungicide and chitosan on non-target lichenized fungi // Chemosphere. 2023. V. 316. P. 137772.  
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.137772>

---

---

**SHORT COMMUNICATIONS**

---

---

## Activity of East Siberian *Trichoderma* Isolates against Plant-pathogenic Microorganisms

V. E. Kuznetsova<sup>1, \*</sup>, E. A. Matveeva<sup>1</sup>, and L. A. Belovezhets<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Irkutsk, 664033 Russia

\*e-mail: [uchiha-viksy@mail.ru](mailto:uchiha-viksy@mail.ru)

Received October 13, 2023; revised October 30, 2023; accepted November 1, 2023

**Abstract**—The genus *Trichoderma* comprised important antagonists of pathogenic fungi and can be used in agriculture to combat various plant diseases. In the course of the present work, two micromycete strains were isolated from wood cuts in Eastern Siberia, which were identified by morphological and molecular genetic characteristics as *Trichoderma atroviride* and *Trichoderma harzianum*. These *Trichoderma* strains efficiently inhibited the development of the pathogenic fungi studied (by up to 80%). The data presented in the paper indicate that *Trichoderma atroviride* and *Trichoderma harzianum* may be promising for further study of the means of biocontrol of plant diseases.

**Keywords:** microbial antagonists, *Trichoderma*, plant pathogens, biocontrol