

# PECULIARITIES OF INTERACTION OF *TRICHODERMA LONGIBRACHIATUM* WITH PHYTOPATHOGENIC MICROMYCETES

Andrey I. Sidyakin

*Research and Production Association Biotechsoyuz, Moscow*  
*Crimean Federal V.I. Vernadsky University, Simferopol*

The fungi of the genus *Trichoderma* are known as a source of antibacterial compounds; they are used in the production of biological preparations for the forcing of plant growth and yield capacity of plants, as well as for their protection from the diseases. To protect the plants from phytopathogens, *Trichoderma harzianum* (= *T. inhamatum*); *Trichoderma virens*; *Trichoderma asperellum*; *Trichoderma koningii* and *Trichoderma lignorum* (= *T. glaucum*; *T. strictipile*; *T. viride*) are used. As a result of the long-term many years of research work in the laboratory of biotechnologies “Research and Production Association Biotechsoyuz”, a number of strains of *Trichoderma longibrachiatum* have been obtained. These strains are the basis for the production of highly efficient biofungicide and plant growth stimulator TrikhoPlant. In the scientific literature, a number of types of interaction of micromycetes of the genus *Trichoderma* with the phytopathogenic micromycetes are described. The purpose of this work is the study of the interaction peculiarities of the strains of *Trichoderma longibrachiatum* GF 2/6, J2 30 Brz and Za 3/19 GF with various phytopathogenic micromycetes.

## Materials and methods.

In order to determine the type of interaction of phytopathogens and *Trichoderma*, and to evaluate the biocontrol properties, they have been plated on the surface of potato dextrose agar using discs of filter paper moistened in suspension of conidia of phytopathogens. One Petri dish was seeded with three phytopathogenic micromycetes and with one of the *Trichoderma* strains. The replication of experiments is five-fold. Three strains of *T. longibrachiatum*: GF 2/6, J2 30 Brz and Za 3/19 GF, which are the basis of biological preparation TrikhoPlant®, and fifteen strains of pathogens from the own collection: *Cladosporium cucumerinum*, *Alternaria alternate*, *Passalora fulva*, *Fusarium avenaceum*, *Fus. sporotrichioides*, *Aspergillus flavus* (two strains which differ by toxicogenity: the strain “z12016” and the strain “bank”), *Penicillium aurantiogriseum*, *Puccinia graminis* (basidial stage), *Thanatephorus cucumeris*, *Phytophthora infestans*, *Fusarium solani*, *Fus. moniliforme*, *Aspergillus fumigatus* and *Botrytis cinerea* were used in the experiment. The types of interaction of phytopathogens and *Trichoderma* strains were classified according to the classification adopted by Belyayev V.B. et al. The following has been distinguished: 1) fungistatic alimentary antagonism: increment of colony *Trichoderma* onto the colony of phytopathogen and cessation of the phytopathogen growth; 2) fungistatic antibiotal antagonism, where the growth of the phytopathogen colony decelerates at a certain distance from the colony *Trichoderma*; 3) fungistatic territorial antagonism, where the growth of the phytopathogen colony is constrained by the colony *Trichoderma* all over the surface of the Petri dish. The biocontrol properties of the *Trichoderma* strains were evaluated by the biological efficiency calculations using modified Henderson and Tilton formula.

The results of conducted research have shown that the strains of *T. longibrachiatum* GF 2/6, J2 30 Brz and strains Za 3/19 GF inhibit the growth of pathogenic micromycetes showing strain differences in the level of biocontrol properties and in the type of interaction “*Trichoderma*-pathogen”

The strain *T. longibrachiatum* J2 30 Brz effectively inhibits the growth of *Thanatephorus cucumeris*, *Phytophthora infestans* and *Puccinia graminis* (fig. 1. A, B; fig. 2).

The strain J2 30 Brz shows an expressed in varying degrees fungistatic alimentary antagonism in regard to all the three phytopathogens.

The strain *T. longibrachiatum* GF 2/6 effectively inhibits the growth of the nine types of phytopathogens: *C. cucumerinum*, *Alt. alternate* and *Pas. fulva* (fig. 3, A, B; fig. 4, A), *B. cinerea*, *Fus. avenaceum*, *Fus. sporotrichioides* (fig. 3, C, D; fig. 4, B), *Pen. aurantiogriseum*, *Asp. flavus* strain “bank” and *Asp. fumigatus* (fig. 3, E, F; fig. 3, C). In regard to *C. cucumerinum*, *Alt. alternate*, *Fus. avenaceum* *Trichoderma* the strain testifies fungistatic alimentary antagonism, while in regard to *Pass. fulva*, *B. cinerea*, *Fus. sporotrichioides*, *Pen. aurantiogriseum*, *Asp. flavus* and *Asp. fumigatus* it exhibits fungistatic territorial antagonism, constraining the growth of their colonies in comparison with the control (fig. 3).

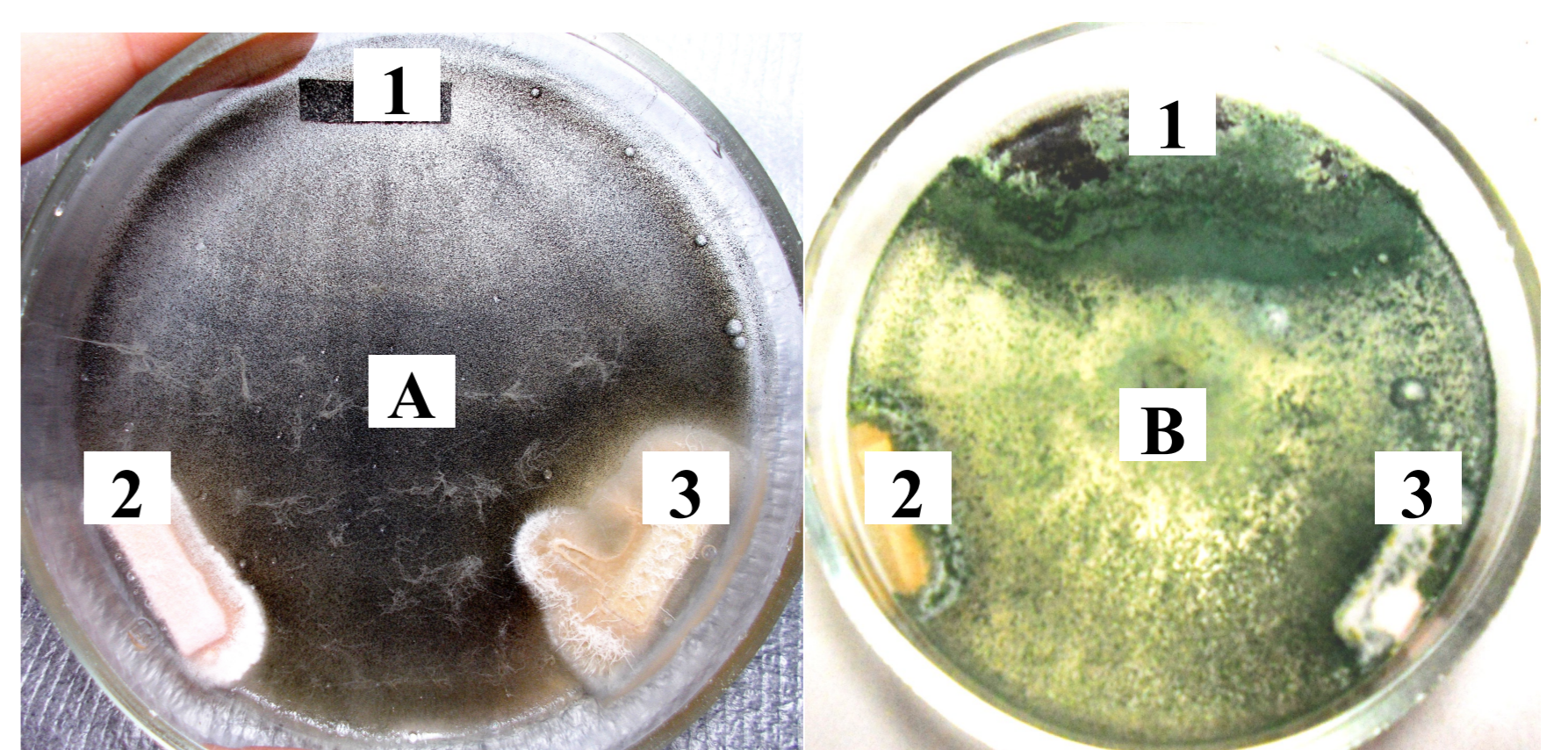


Fig. 1. Change of sizes of colonies of phytopathogenic micromycetes under their joint cultivation with *T. longibrachiatum* J2 30 Brz within 4 days: A – control; B – experiment. 1 – *Th. cucumeris*, 2 – *Ph. infestans*, 3 – *P. graminis*.

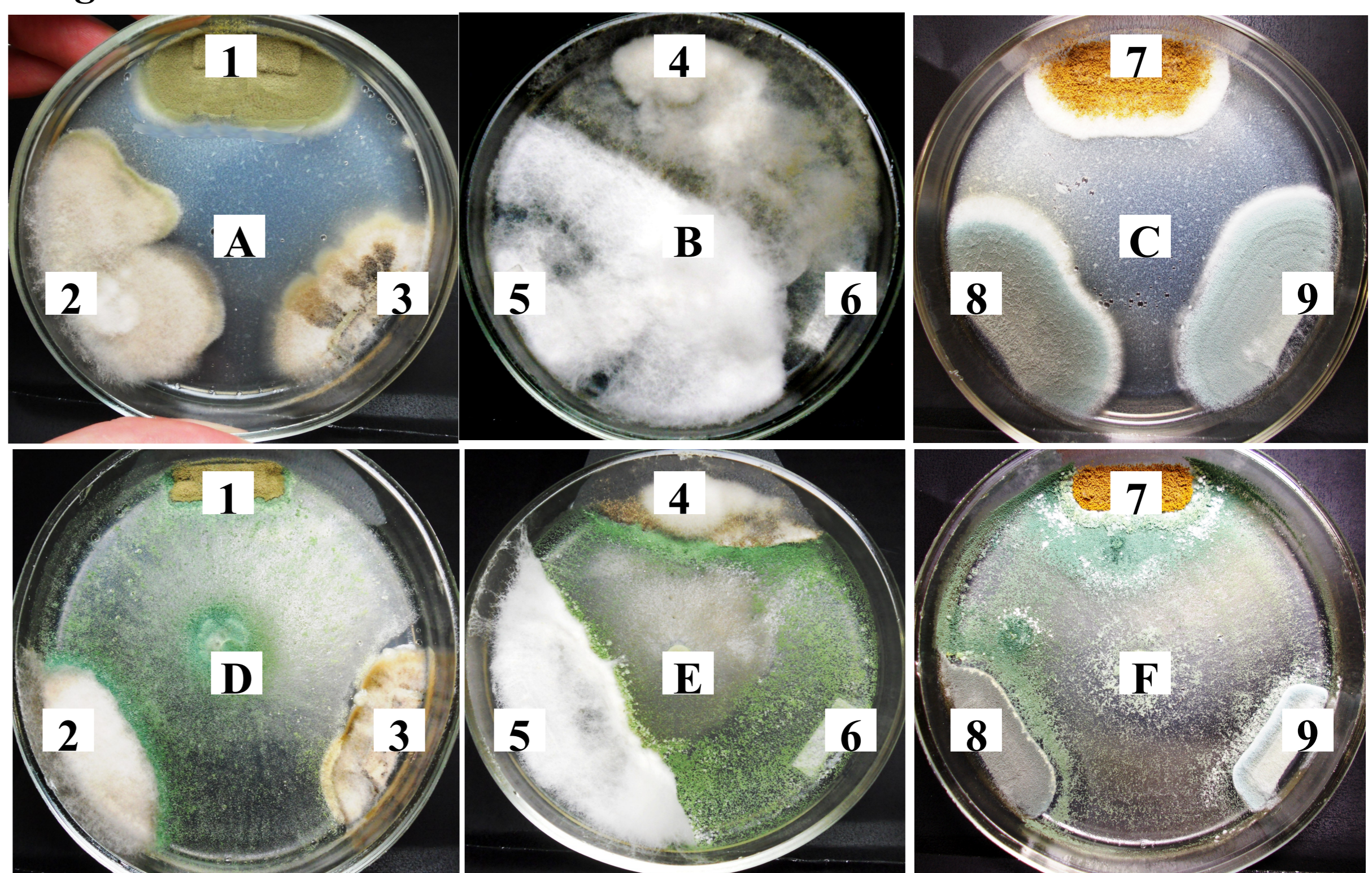


Fig. 3. Change of sizes of colonies of phytopathogenic micromycetes under their joint cultivation with *T. longibrachiatum* GF 2/6 within 4 days: A, B, C – control; D, E, F – experiment. 1 – *C. cucumerinum*, 2 – *Alt. alternate*, 3 – *Pas. fulva*, 4 – *B. cinerea*, 5 – *Fus. sporotrichioides*, 6 – *Fus. avenaceum*, 7 – *Asp. flavus* strain “bank”, 8 – *Asp. fumigatus*, 9 – *Pen. aurantiogriseum*.

The strain *T. longibrachiatum* Za 3/19 GF most effectively inhibits the growth of *Fus. solani*, *Fus. moniliforme* and *Asp. flavus* strain “zl2016” (fig. 5, A, B, fig. 6). At the same time, in regard to these phytopathogens it testifies fungistatic territorial antagonism constraining the growth of their colonies in comparison with the control (fig. 5).

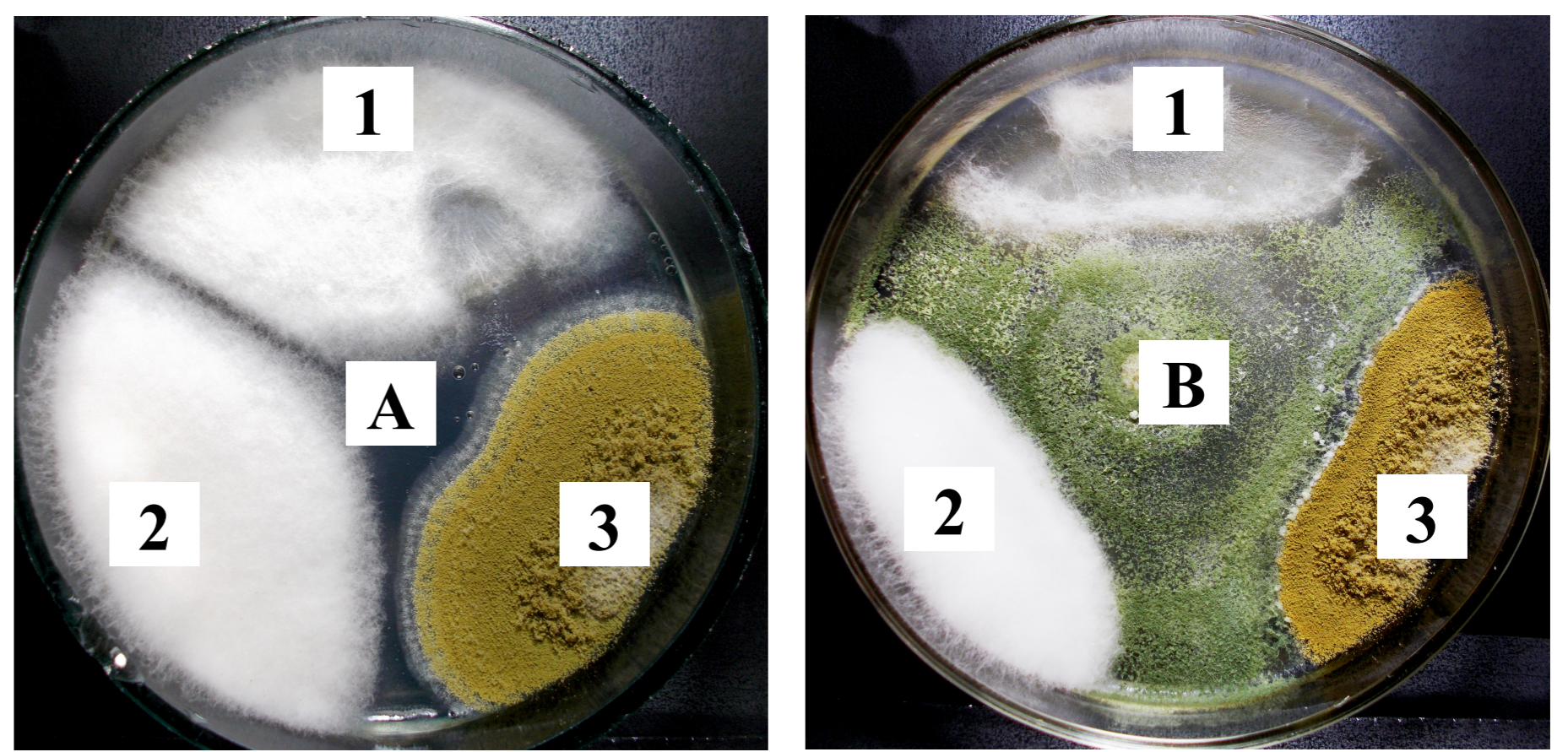


Fig. 5. Change of sizes of colonies of phytopathogenic micromycetes under their joint cultivation with *T. longibrachiatum* Za 3/19 GF within 4 days: A – control; B – experiment. 1 – *Fus. solani*, 2 – *Fus. moniliforme*, 3 – *Asp. flavus* strain “zl2016”.

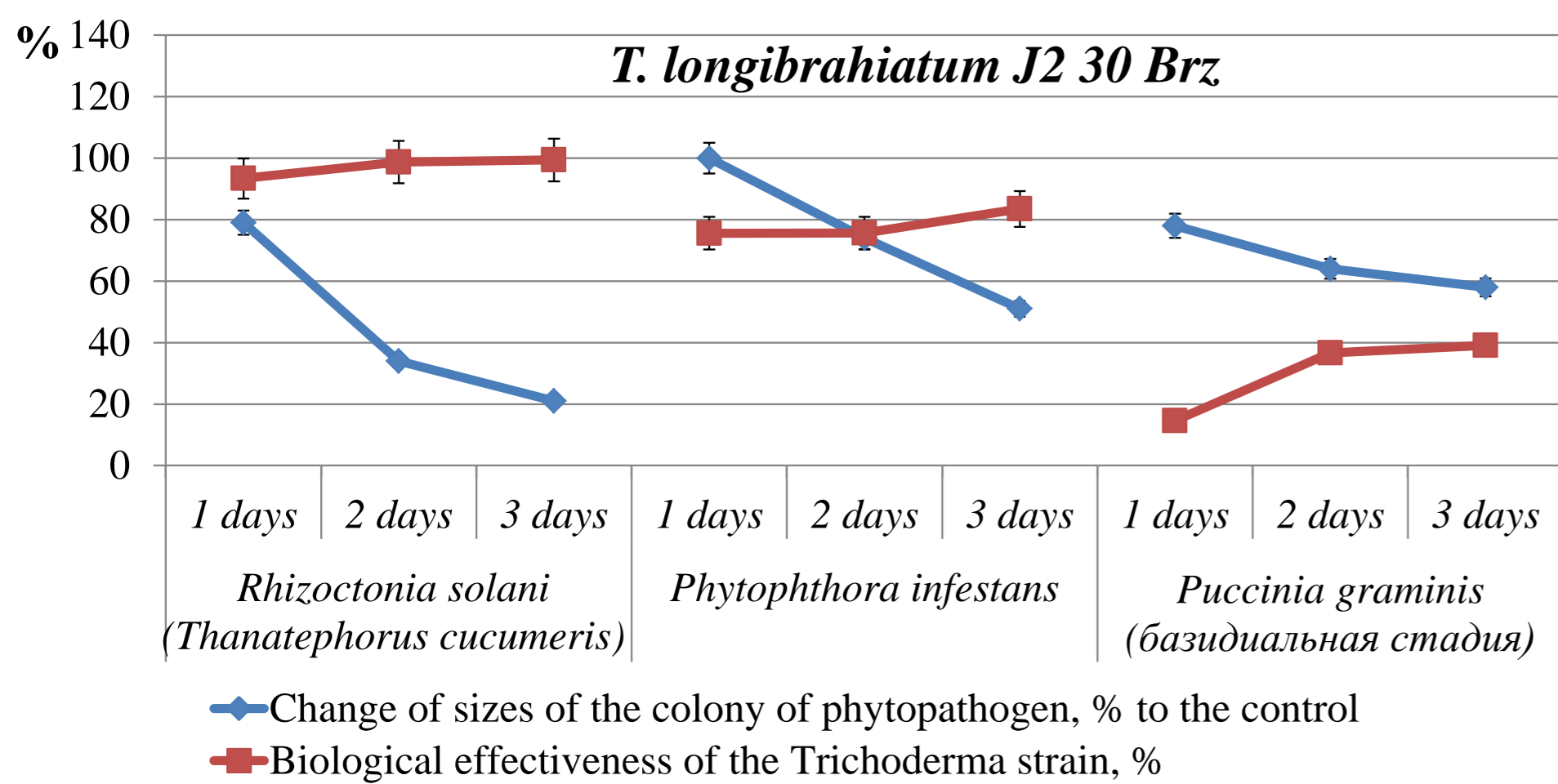


Fig. 2. Biological effectiveness of the strain *T. longibrachiatum* J2 30 Brz in regard to the inhibition of *Thanatephorus cucumeris*, *Phytophthora infestans* and *Puccinia graminis*.

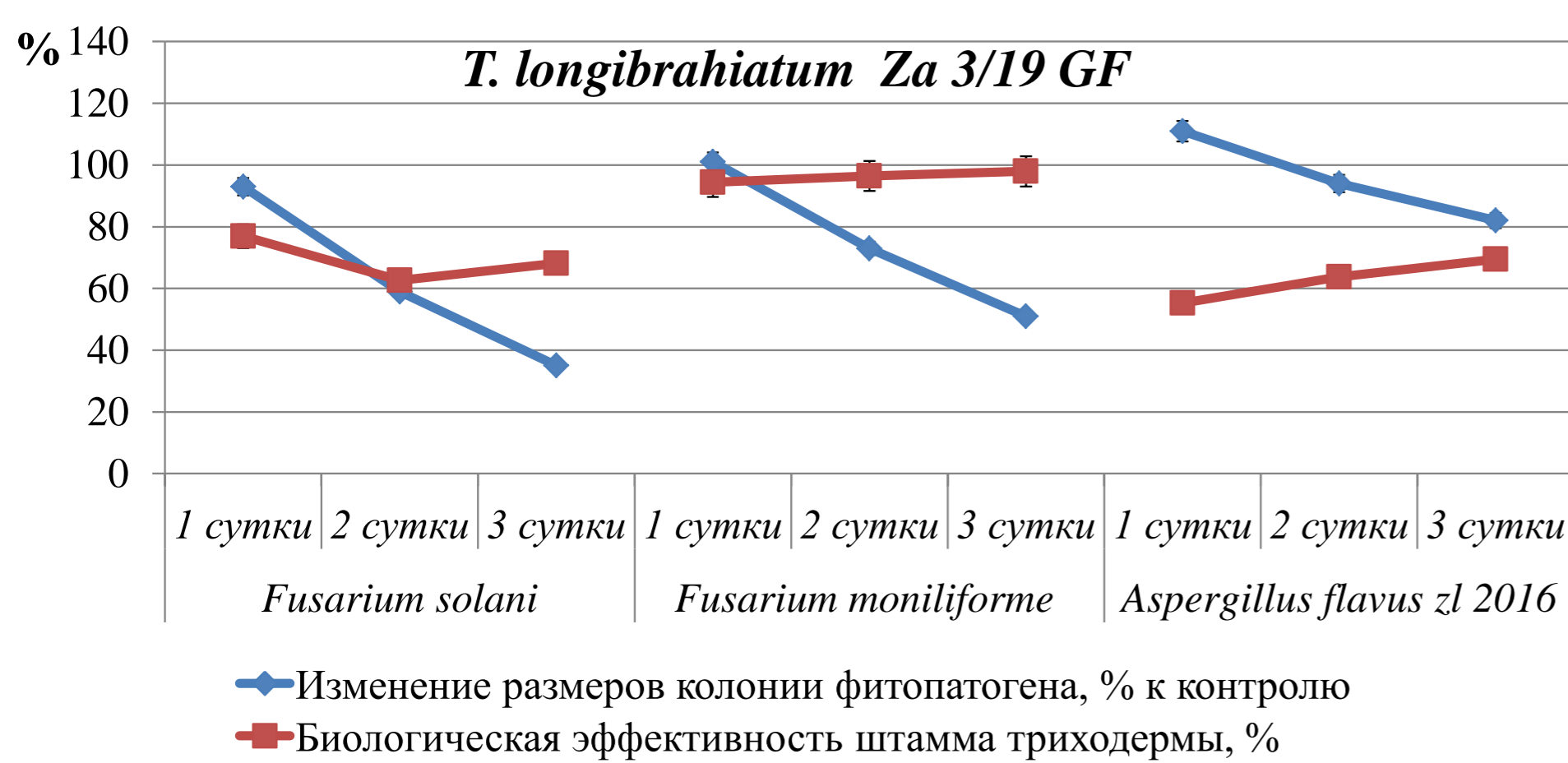


Fig. 6. Biological effectiveness of the strain *T. longibrachiatum* Za 3/19 GF in regard to the phytopathogens *Fus. solani*, *Fus. moniliforme* and *Asp. flavus* strain “zl2016”.

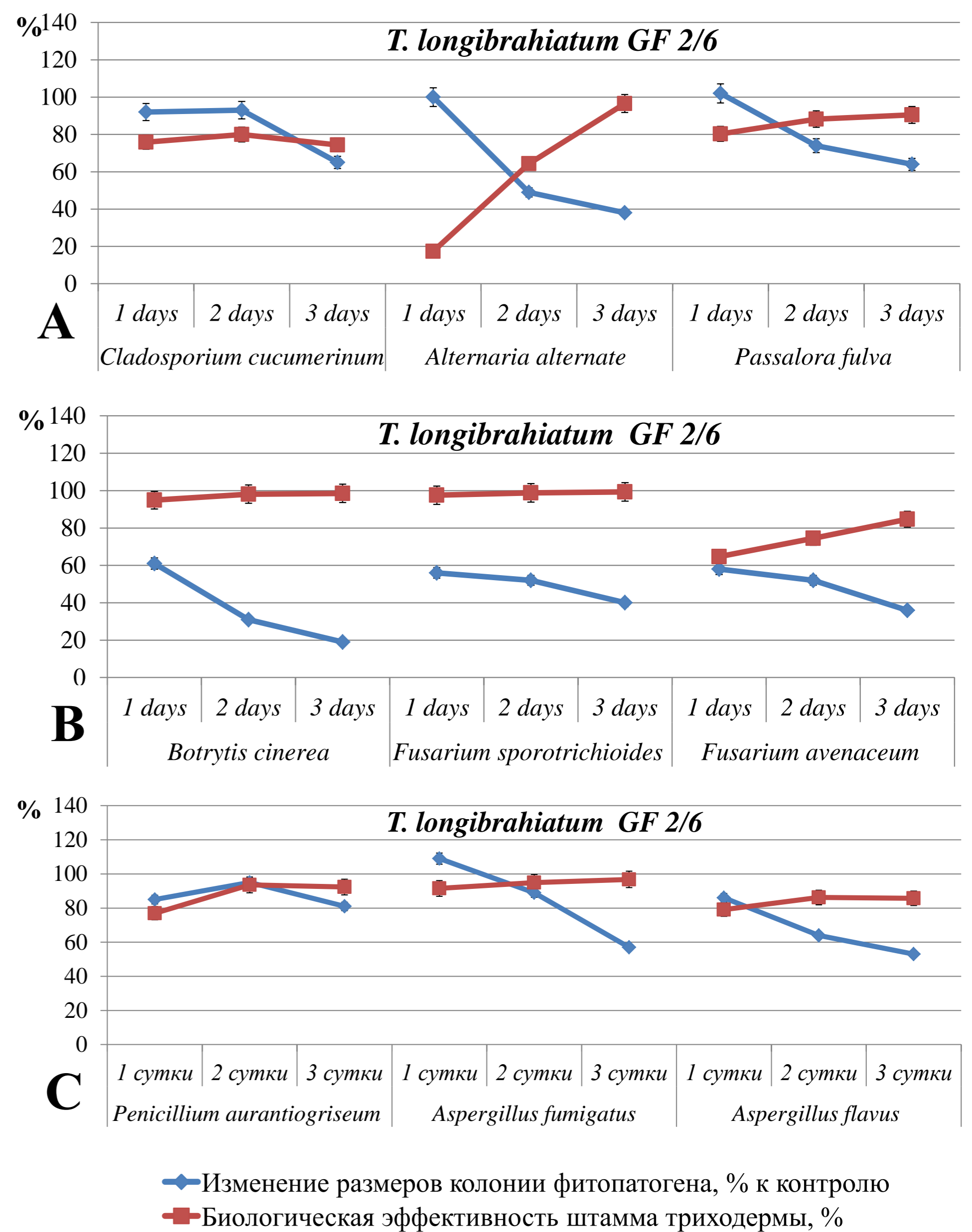


Fig. 3. Biological effectiveness of the strain *T. longibrachiatum* GF 2/6 in regard to the phytopathogens *C. cucumerinum*, *Alt. alternate*, *Pas. fulva*, *B. cinerea*, *Fus. sporotrichioides*, *Fus. avenaceum*, *Asp. flavus*, штамм “bank”, *Asp. fumigatus* и *Pen. aurantiogriseum*.

## Conclusion

It is shown that the strains *Trichoderma longibrachiatum* Za 3/19 GF, GF 2/6 and J2 30 Brz, which are part of the biofungicide TrihoPlant, inhibit the growth of fifteen phytopathogenic micromycetes. The strain differences in the level of expression of biocontrol properties and in the type of interaction “Trichoderma-phytopathogen” are revealed. The type of interaction is determined by the species affiliation of the phytopathogen and/or by the strain *Trichoderma*.

Fungistatic territorial antagonism is common to the strains *T. longibrachiatum* Za 3/19 GF and GF 2/6 in regard to *Fus. solani*, *Fus. moniliforme*, *Fus. sporotrichioides*, *Asp. flavus* strain “zl2016” and the strain “bank”, *Asp. fumigatus*, *Pen. aurantiogriseum*, *B. cinerea* and *Pass. fulva*.

Fungistatic alimentary antagonism is expressed by the strains *T. longibrachiatum* J2 30 Brz and GF 2/6 in regard to *Th. cucumeris* (*Rh. solani*), *Ph. infestans*, *C. cucumerinum*, *Alt. alternate*, *Fus. avenaceum* and to the basidial stage *Puc. graminis*.

Fungistatic antibiotoxic antagonism has not been identified for the studied strains of *T. longibrachiatum*; this offers additional opportunities of the use of these strains in the production of biofungicide (non-toxicogenity in regard to the plants, reduction of toxicity class and reduction of hazard to humans and animals).

# ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ *TRICHODERMA LONGIBRACHIATUM* С ФИТОПАТОГЕННЫМИ МИКРОМИЦЕТАМИ

А.И. Сидякин

НПО Биотехсоюз, Москва

Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского, Симферополь

Грибы рода *Trichoderma* известны как источник антибактериальных соединений, используются в производстве биопрепаратов для стимуляции роста и урожайности растений, их защиты от болезней. Для защиты растений от фитопатогенов используют *Trichoderma harzianum* (= *T. inhamatum*); *Trichoderma virens*; *Trichoderma asperellum*; *Trichoderma koningii* и *Trichoderma lignorum* (= *T. glaucum*; *T. strictipile*; *T. viride*). В результате многолетней научно-исследовательской работы в лаборатории биотехнологий НПО Биотехсоюз были получены несколько штаммов *Trichoderma longibrachiatum*, на основе которых производится высокоэффективный биофунгицид и стимулятор роста растений ТрихоПлант. В научной литературе описано несколько типов взаимодействия микромицетов рода *Trichoderma* с фитопатогенными микромицетами. Целью настоящей работы является исследование особенностей взаимодействия штаммов *Trichoderma longibrachiatum* GF 2/6, J2 30 Brz и Za 3/19 GF с различными фитопатогенными микромицетами.

## Материалы и методы.

Для определения типа взаимодействия фитопатогенов и триходермы и оценки биоконтролирующих свойств их высевали на поверхность картофельно-глюкозного агар, используя диски из фильтровальной бумаги, смоченные в суспензии конидий. Одну чашку петри засеивали тремя фитопатогенными микромицетами и одним из штаммов триходермы. Повторность опытов пятикратная. В эксперименте использовали три штамма *Trichoderma longibrachiatum*: GF 2/6, J2 30 Brz и Za 3/19 GF, являющиеся основой биопрепарата ТрихоПлант®, и пятнадцать штаммов фитопатогенов из собственной коллекции: *Passalora fulva*, *Fusarium avenaceum*, *Fus. solani*, *Fus. sporotrichioides*, *Fus. moniliforme*, *Thanatephorus cucumeris* (*Rhizoctonia solani*), *Phytophthora infestans*, *Alternaria alternate*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus* (два штамма, отличающиеся по токсикогенности: штамм «zl2016» и штамм «bank»), *Penicillium aurantiogriseum*, *Puccinia graminis* (базидиальная стадия), *Botrytis cinerea*, *Cladosporium cucumerinum*. Типы взаимодействия фитопатогенов и штаммов триходермы классифицировали по системе Беляева В. Б. и соавторов (Пат. 1671684 SU). Выделяли: 1) фунгистатический алиментарный антагонизм: нарастание колонии *Trichoderma* на колонию фитопатогена и прекращении роста фитопатогена; 2) фунгистатический антибиотический антагонизм, при котором рост колонии фитопатогена замедляется на некотором расстоянии от колонии *Trichoderma*; 3) фунгистатический территориальный антагонизм, при котором рост колонии фитопатогена ограничивается колонией *Trichoderma* по всей поверхности чашки. Биоконтролирующие свойства штаммов *Trichoderma* оценивали по расчету биологической эффективности с использованием модифицированной формулы Хендерсона-Тилтона.

В результате проведенных исследований установлено, что штаммы *Trichoderma longibrachiatum* GF 2/6, J2 30 Brz и Za 3/19 GF подавляют рост фитопатогенных микромицетов, проявляя штаммовые различия в уровне биоконтролирующих свойств и типе взаимодействия «триходерма-патоген».

Штамм *Trichoderma longibrachiatum* J2 30 Brz эффективно подавляет рост *Thanatephorus cucumeris*, *Phytophthora infestans* и *Puccinia graminis* (рис. 1. А, В; рис. 2). Штамм J2 30 Brz проявляет выраженный в различной степени фунгистатический алиментарный антагонизм в отношении всех трех фитопатогенов.

Штамм *T. longibrachiatum* GF 2/6 эффективно подавляет рост девяти видов фитопатогенов: *Clad. cucumerinum*, *Alt. alternate* и *Pass. fulva* (рис. 3, А, В; рис 4, А), *B. cinerea*, *Fus. avenaceum*, *Fus. sporotrichioides* (рис 3, С, D; рис 4, В), *Pen. aurantiogriseum*, *Asp. flavus* штамм «bank» и *Asp. fumigatus* (рис. 3, Е, F; рис. 3, С). В отношении *Cladosporium cucumerinum*, *Alternaria alternate*, *Fusarium avenaceum* *Trichoderma* проявляет фунгистатический алиментарный антагонизм, а в отношении *Passalora fulva*, *Botrytis cinerea*, *Fus. sporotrichioides*, *Penicillium aurantiogriseum*, *Aspergillus flavus* и *Aspergillus fumigatus* – фунгистатический территориальный антагонизм, ограничивая рост их колоний по сравнению с контролем (рис. 3).

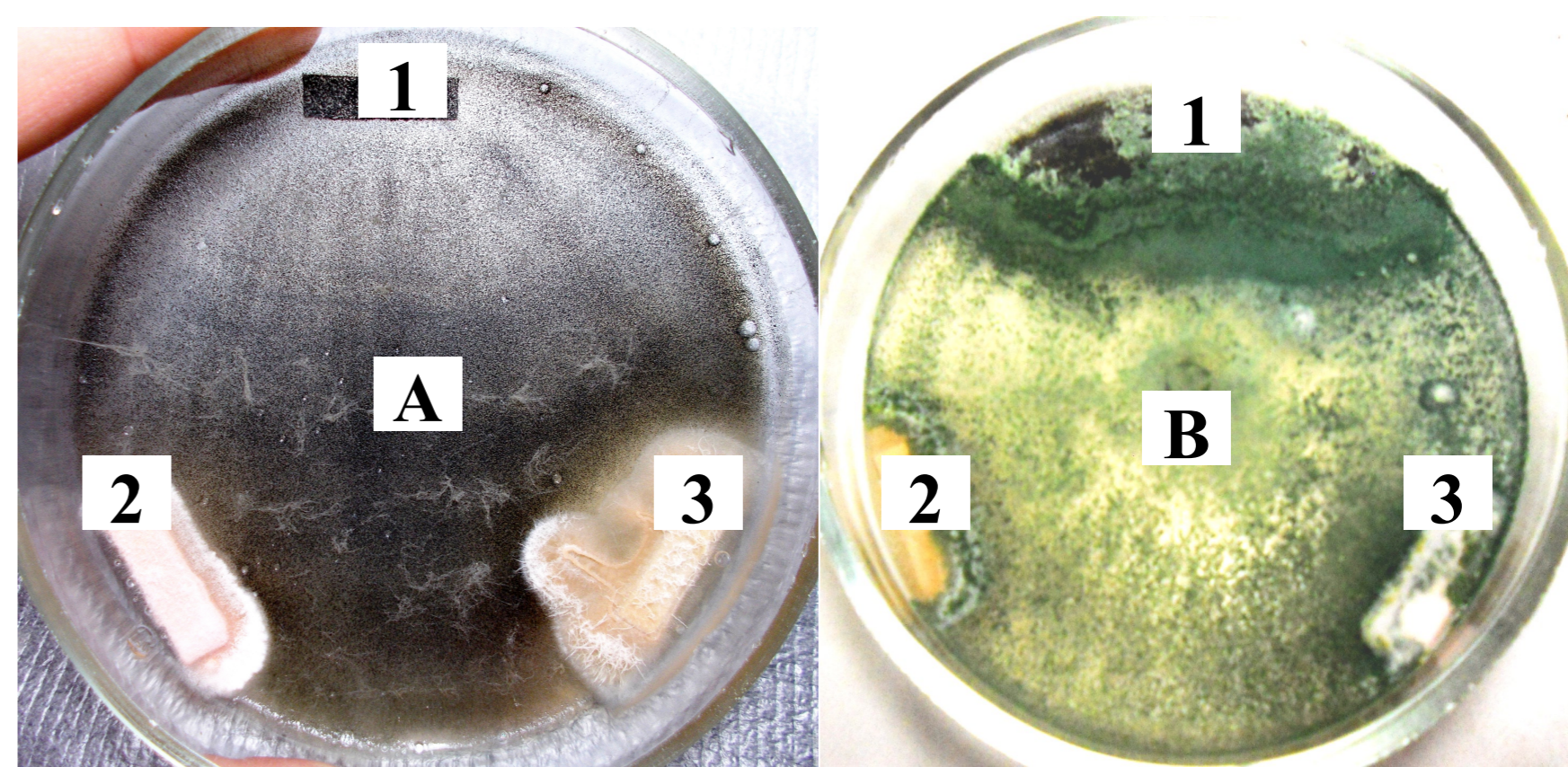


Рис. 1. Изменение размеров колоний фитопатогенных микромицетов при их совместном культивировании с *Trich. longibrachiatum* J2 30 Brz в течение 4 суток: А – контроль; В – опыт. 1 – *Thanatephorus cucumeris*, 2 – *Phytophthora infestans*, 3 – *Puccinia graminis*.

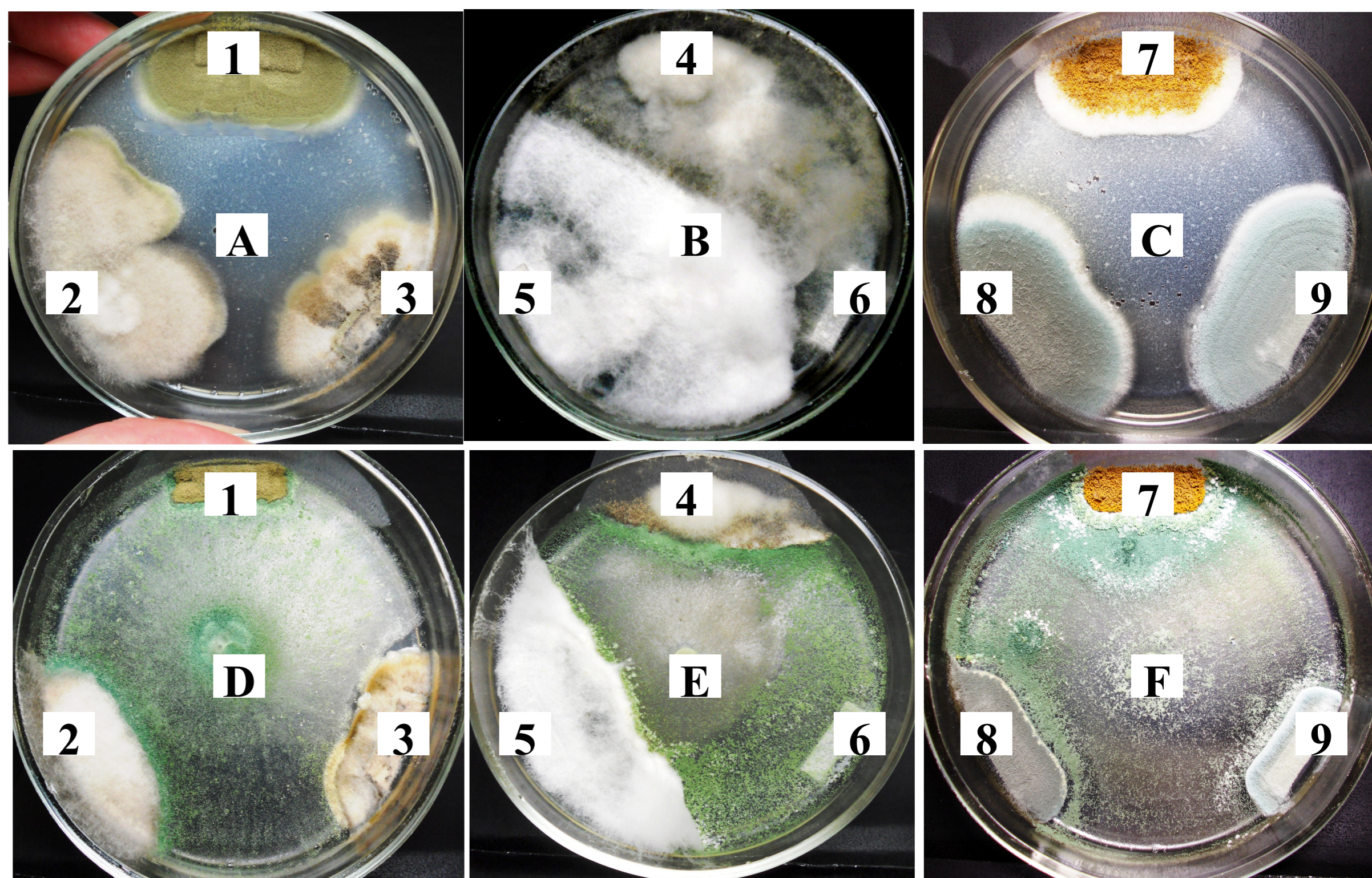


Рис. 3. Изменение размеров колоний фитопатогенных микромицетов при их совместном культивировании с *T. longibrachiatum* GF 2/6 в течение 4 суток: А, В, С – контроль; D, Е, F – опыт. 1 – *Cl. cucumerinum*, 2 – *A. alternate*, 3 – *Pas. fulva*, 4 – *Botrytis cinerea*, 5 – *Fus. sporotrichioides*, 6 – *Fus. avenaceum*, 7 – *Asp. flavus* штамм «bank», 8 – *Asp. fumigatus*, 9 – *Pen. aurantiogriseum*.

Штамм *T. longibrachiatum* Za 3/19 GF наиболее эффективно подавляет рост *Fusarium solani*, *Fus. moniliforme* и *Aspergillus flavus* штамм «zl2016» (рис. 5, А, В, рис. 6). При этом в отношении этих фитопатогенов проявляет фунгистатический территориальный антагонизм, ограничивая рост их колоний по сравнению с контролем (рис. 5).

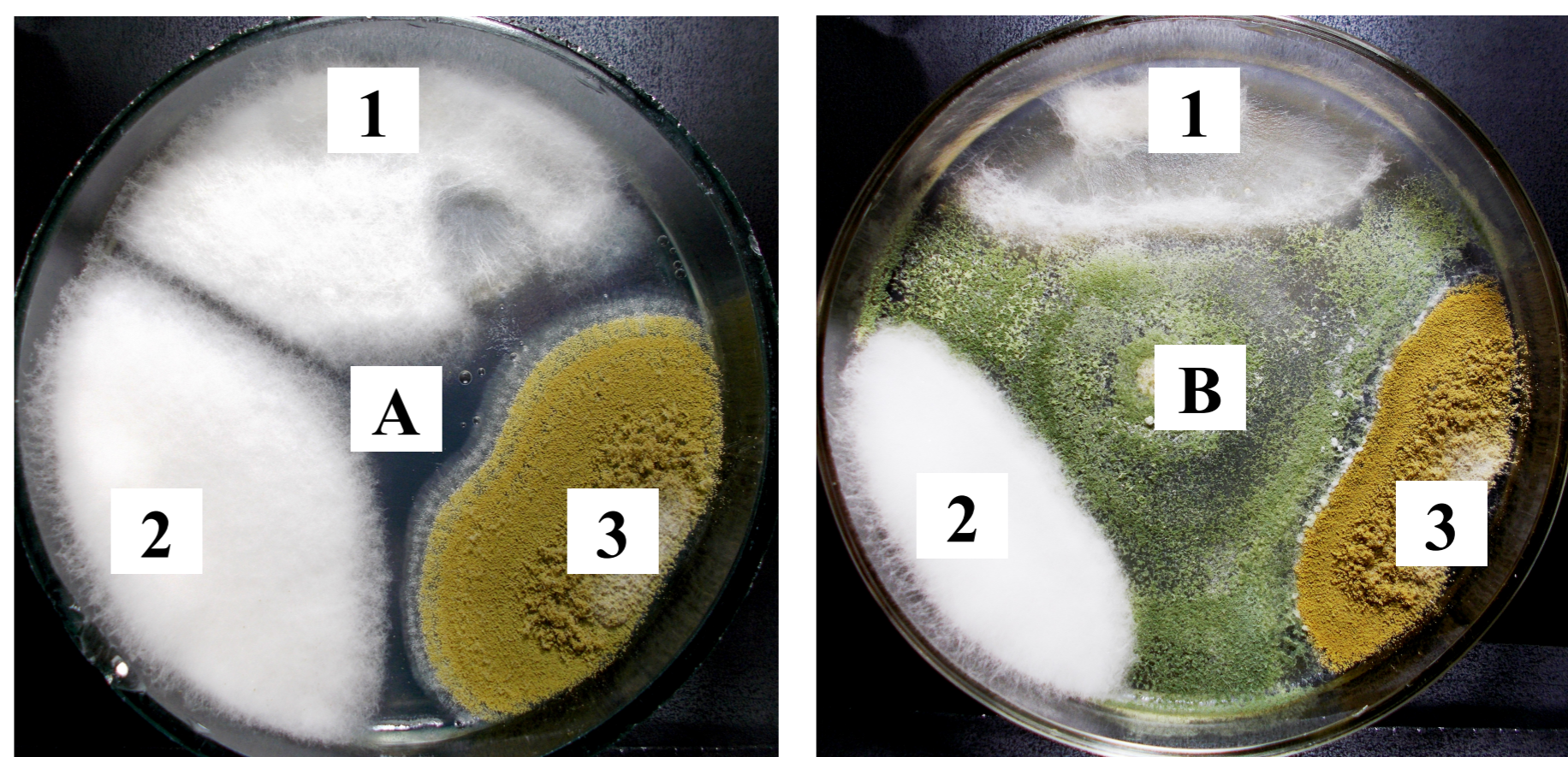


Рис. 5. Изменение размеров колоний фитопатогенных микроорганизмов при их совместном культивировании с *T. longibrachiatum* Za 3/19 GF в течение 4 суток: А – контроль; В – опыт. 1 – *Fus. solani*, 2 – *Fus. moniliforme*, 3 – *Asp. flavus* штамм «zl2016».

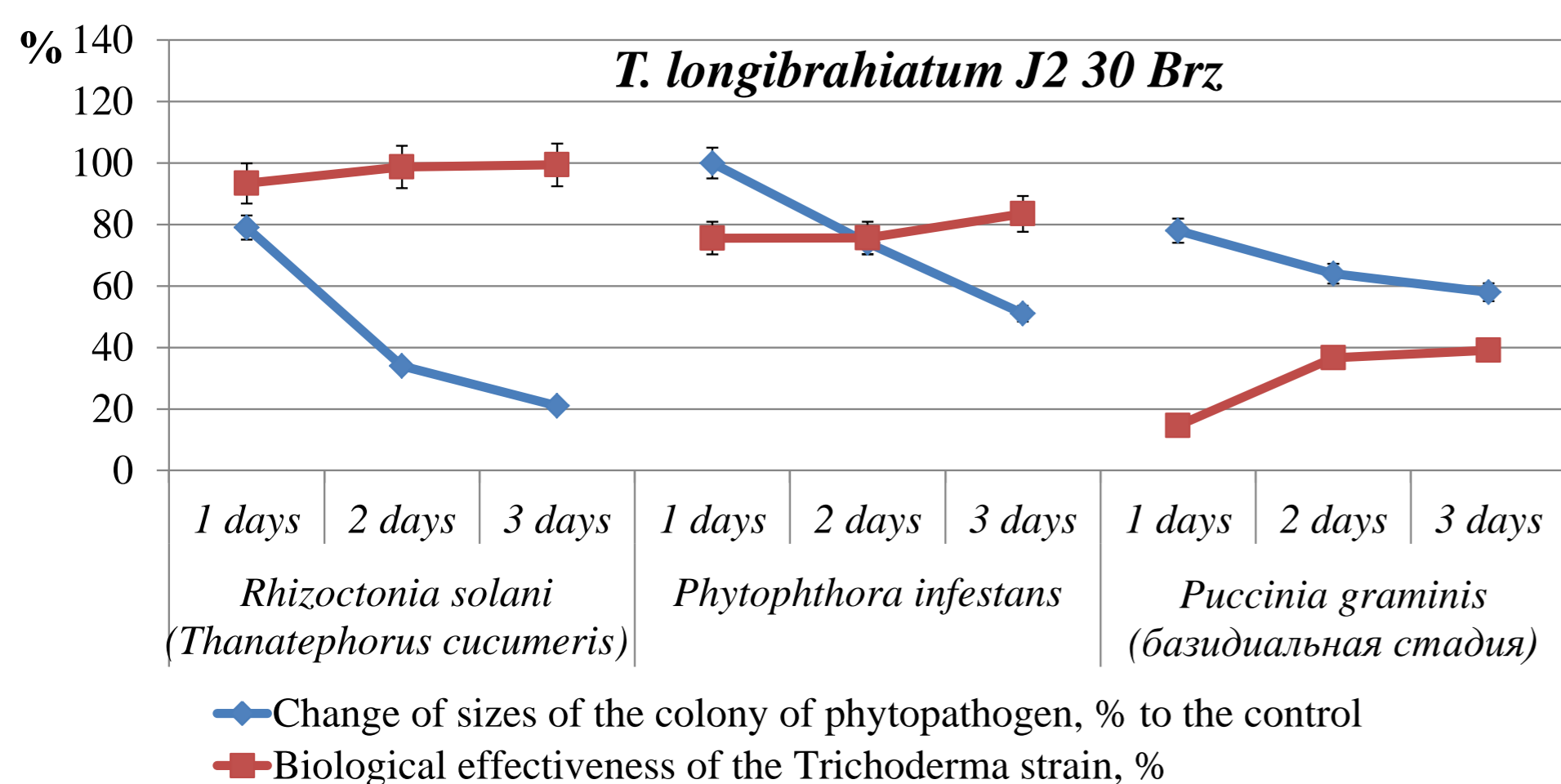


Рис. 2. Биологическая эффективность штамма *T. longibrachiatum* J2 30 Brz в отношении подавления фитопатогенов *Thanatephorus cucumeris*, *Phytophthora infestans* and *Puccinia graminis*.

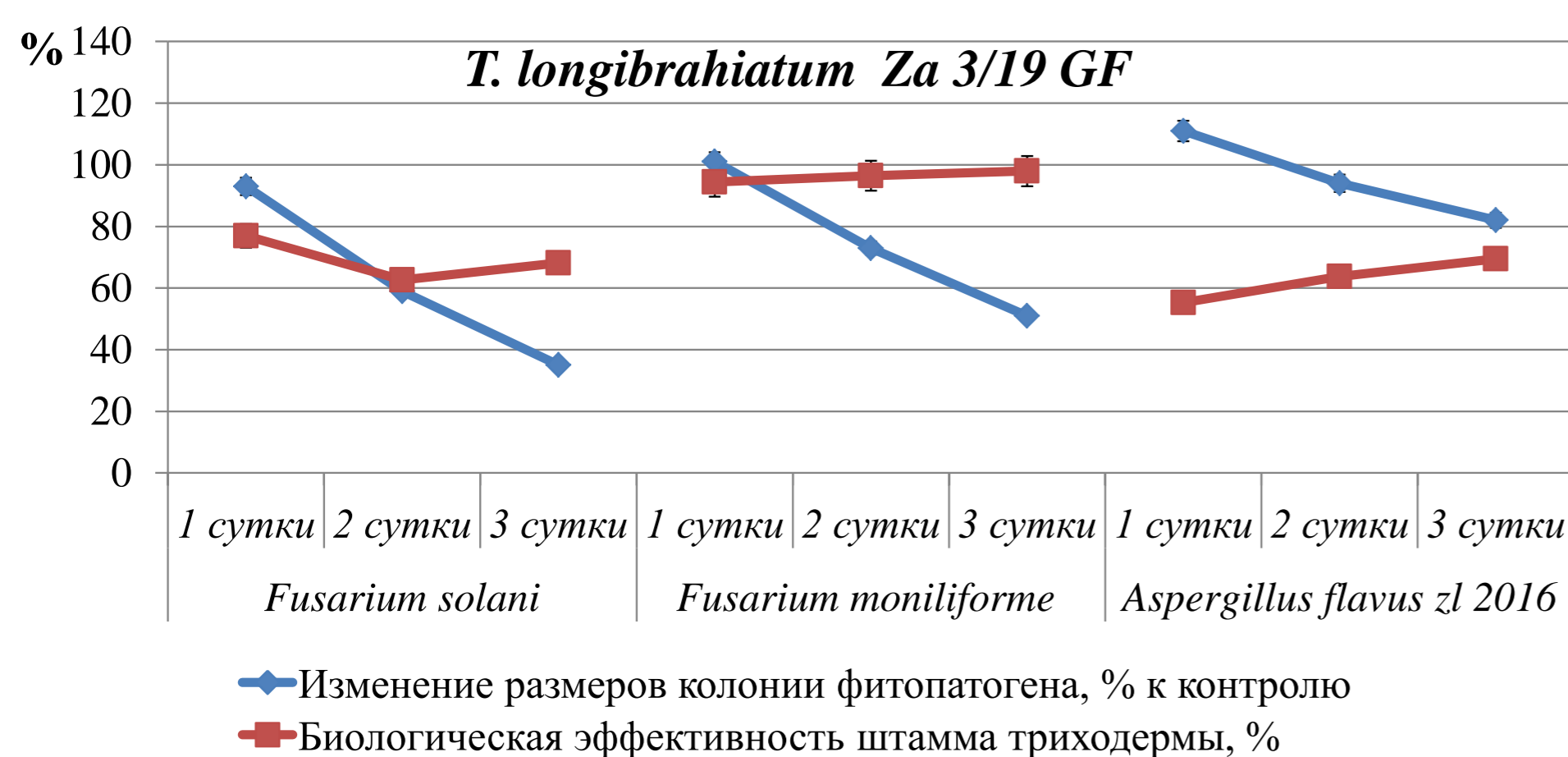


Рис. 6. Биологическая эффективность штамма *T. longibrachiatum* Za 3/19 GF в отношении подавления фитопатогенов *Fus. solani*, *Fus. moniliforme* and *Asp.s flavus*, штамм “zl2016”.

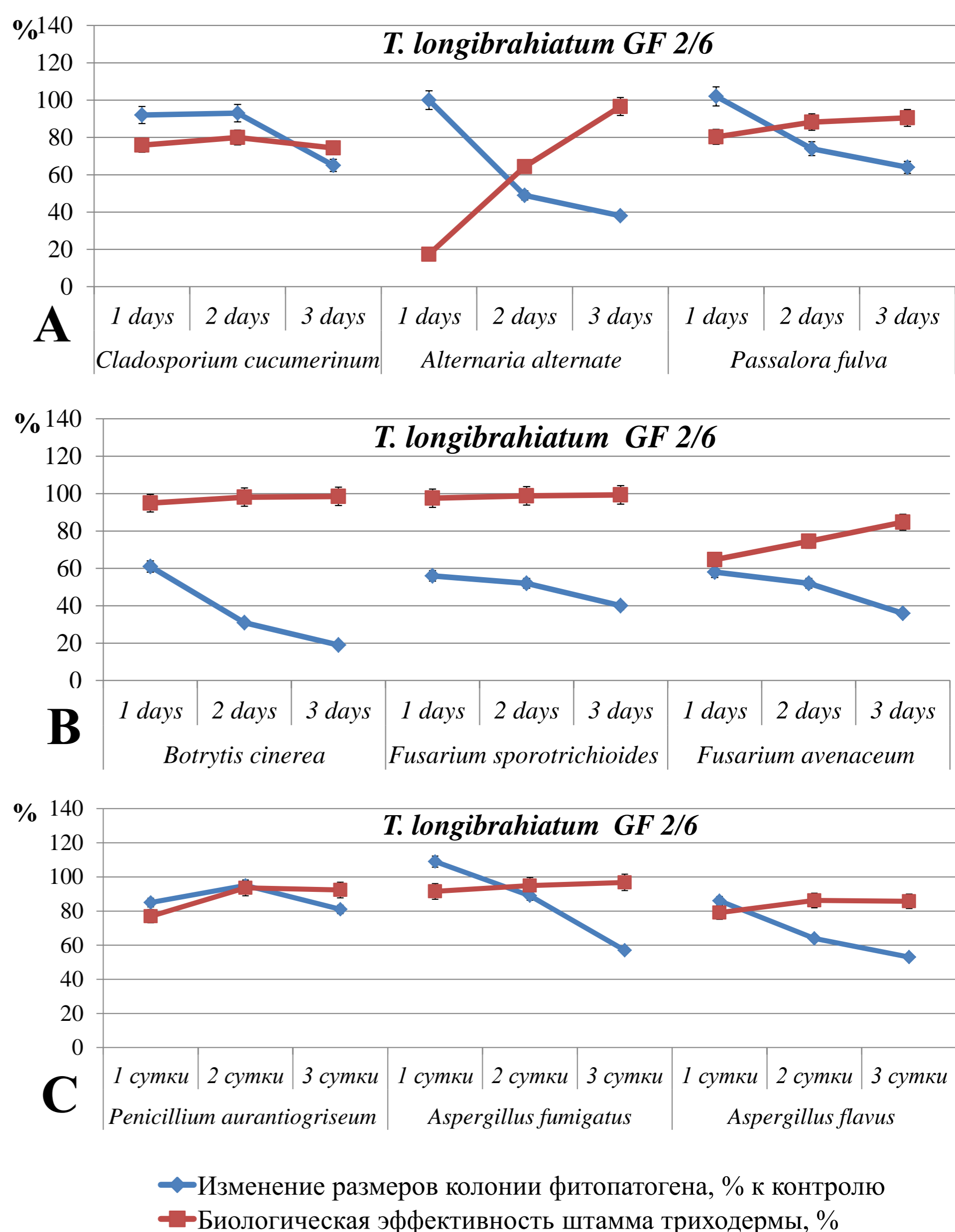


Fig. 3. Биологическая эффективность штамма *T. longibrachiatum* GF 2/6 в отношении подавления фитопатогенов *C. cucumerinum*, *Alt. alternate*, *Pas. fulva*, *B. cinerea*, *Fus. sporotrichioides*, *Fus. avenaceum*, *Asp. flavus*, штамм “bank”, *Asp. fumigatus* и *Pen. aurantiogriseum*.

## Заключение

Показано, что штаммы *Trichoderma longibrachiatum* Za 3/19 GF, GF 2/6 и J2 30 Brz, входящие в состав биофунгицида ТрихоПлант подавляют рост пятнадцати фитопатогенных микроорганизмов. Выявлены штаммовые различия в уровне проявления биоконтролирующих свойств и типе взаимодействия «триходерма-фитопатоген». Тип взаимодействия определяется видовой принадлежностью фитопатогена и(или) штаммом *Trichoderma*.

Фунгистатический территориальный антагонизм характерен для штаммов *Trichoderma longibrachiatum* Za 3/19 GF и GF 2/6 в отношении *Fusarium solani*, *Fus. moniliforme*, *Fus. sporotrichioides*, *Aspergillus flavus* штамм «zl2016» и штамм «bank», *Asp. fumigatus*, *Penicillium aurantiogriseum*, *Botrytis cinerea* и *Passalora fulva*.

Фунгистатический алиментарный антагонизм проявляют штаммы *Trichoderma longibrachiatum* J2 30 Brz и GF 2/6 в отношении *Thanatephorus cucumeris* (*Rhizoctonia solani*), *Phytophthora infestans*, *Cladosporium cucumerinum*, *Alternaria alternate*, *Fusarium avenaceum* и базидиальной стадии *Puccinia graminis*.