

**ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ
(СТИМУЛИРУЮЩИХ И БИОКОНТРОЛИРУЮЩИХ СВОЙСТВ)
БИОПРЕПАРАТА ТРИХОПЛАНТ**

Сидякин А.И., Филоненко В.А.

НПО Биотехсоюз. 127591 г. Москва, ул. Дубнинская д. 79, стр.14.

В настоящее время в борьбе с фитопатогенными микроорганизмами широко используются биопрепараты на основе микромицетов рода *Trichoderma* [Голованова, 2008.]. Выступая естественными обитателями многих природных и искусственных субстратов, быстро размножаясь в условиях культуры и природы, являясь не патогенными для растений, животных и человека, грибы рода *Trichoderma* представляют собой удобный объект для изучения и разработки на основе их активных штаммов средств биоконтроля фитопатогенных микроорганизмов [Александрова, 2003; Коломбет, 2007; Рудаков, 1981; Сейкетов, 1982; Атеф, 2011]. В связи с этим, важной задачей является поиск новых антагонистически активных штаммов *Trichoderma* и создание на их основе новых эффективных биопрепаратов, а также расширение спектра действия уже существующих.

Поскольку в научной литературе данных о возможности использования микромицетов *Trichoderma longibrachiatum* в качестве биоконтрольного агента, перспективного для производства биопрепаратов, обнаружено не было целью настоящего исследования являлась оценка биоконтролирующих и стимулирующих свойств биопрепарата ТРИХОПЛАНТ, производимого на основе *Trichoderma longibrachiatum* GF 2/6

Исследования ростстимулирующих свойств биопрепарата проводили на базе лабораторий НПО Биотехсоюз в 2014 г. в условиях лабораторного вегетационного опыта [Практикум по агрохимии, 2001]. В качестве объектов исследования использовались семена и проростки огурцов (*Cucumis sativus*

L.) сорта Феникс 640, озимой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L., разн. erythrosperrum) сорта Заграва, томатов (*Lycopersicon esculentum* Mill.) сорта Агата.

Исследование ростстимулирующих свойств биопрепарата. Влияние препарата ТРИХОПЛАНТ на проращивание семян и ростовые процессы растений проводили при проращивании семян на фоне препарата с титром спор не менее 1×10^5 КОЕ/см³ (1,0%-ный раствор готового препарата) и отстоянной водопроводной воды (контроль). Для всех исследуемых объектов оценивали следующие показатели: энергию прорастания и всхожесть семян согласно рекомендаций соответствующих статей ГОСТ 12038-84, дружность, скорость прорастания [Поспелов, 2013; Угубнов, 2014] и силу роста семян при их проращивании в песке [Карпин, 2012]. У проростков и растений в условиях лабораторного вегетационного опыта исследовали высоту надземной и длину подземной частей в динамике на 7-й, 14-й и 21-й день выращивания, накопление сухой и сырой биомассы. Для выращивания в водной культуре в условиях лабораторного вегетационного опыта проростки растений переносили в материальные банки номинальной вместимостью 550-560 мл, содержащие 500 см³ минерального раствора Прянишникова [Практикум..., 2001]. Растения выращивали при 16-ти часовом фотопериоде, на фитолюминистате с вертикальным двусторонним способом освещения лампами типа ЛД-30Вт при интенсивности светового потока 130 Вт/м².

Изучение биоконтролирующих свойств биопрепарата. Биологическую эффективность биопрепарата Трихоплант изучали в модельных опытах с использованием чистых культур производственного штамма *Trichoderma longibrachiatum* GF 2/6 и фитопатогенных микромицетов (*Cladosporium cucumerinum*, *Fusarium avenaceum*, *Fusarium solani*, *Fusarium sporotrichioides*, *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora infestans*, *Alternaria* sp.) выделенных от растений, пораженных различными заболеваниями: фузариозом колоса, фузариозным увяданием, альтернариозами, ризоктониозом и др. Биологическую эффективность в

отношении фитопатогенных микромицетов определяли методом двойных культур на картофельно-глюкозном агаре (ГОСТ 12044-93) по методике, изложенной в монографии Рудакова (1981, с. 44, с изм.). Биологическую эффективность *T. longibrachiatum* GF 2/6 в отношении фитопатогенных микромицетов, выражающейся в различных типах взаимодействий оценивали и характеризовали согласно терминологии изложенной в работе [Пат. SU №1671684] с дополнениями и изменениями. Для установления микропаразитических взаимоотношений готовили по общепринятым в микологии методикам микроскопические препараты типа «раздавленная капля», которые микроскопировали и фотографировали на микроскопе ЛОМО МИКМЕД-6 вар 7 с фазово-контрастным устройством.

Ростстимулирующие свойства биопрепарата Трихоплант. Как показали проведенные исследования под действием биопрепарата ТРИХОПЛАНТ, энергия прорастания повышалась на 3,0-12,5%, а всхожесть семян изучаемых культур повышалась на 7,7-19,0% (табл. 1).

Таблица 1.

Влияние биопрепарата Трихоплант на изменение энергии прорастания и всхожести семян различных сельскохозяйственных культур ($\bar{X} \pm S_x$)

Вариант опыта		Энергия прорастания семян					
		Огурцы Феникс 640		Томат Агата		Пшеница Заграва	
		шт.	%	шт.	%	шт.	%
Энергия прорастания	Контроль	11,0±0,2	27,5±2,1	18,0±3,5	45,0±5,7	7,0±0,6	17,5±7,1
	Трихоплант	14,0±0,3	35,0±0,4	23,0±0,1	57,5±1,0	10,0±0,8	25,0±0,9
Всхожесть	Контроль	26,9±0,19	67,3±1,1	30,0±0,77	75,0±1,4	28,9±0,21	72,3±1,5
	Трихоплант	30,0±0,3	75,0±0,2	37,6±0,8	94,0±0,3	33,9±0,6	84,8±0,7

Как показали проведенные исследования, под действием биопрепарата ТРИХОПЛАНТ повышались такие показатели как дружность прорастания

семян (на 0,8-1,4%, табл. 2), но увеличивался средний срок, за который проросло одно семя (скорость прорастания семян возрастала на 0,6-1,0 сут, табл. 3). Обработка семян биопрепаратом Трихоплант, оказывала стимулирующее действие и на способность семян формировать сильные проростки: сила роста семян повышалась на 0,5-2,4 отн.ед. (табл. 5).

Таблица 2.

Влияние биопрепарата Трихоплант на изменение дружности прорастания семян различных сельскохозяйственных культур ($X \pm Sx$)

Вариант опыта	Дружность прорастания (проросших семян/сутки)		
	Огурцов Феникс 640	Томата Агата	Пшеница Заграва
Контроль	3,8±0,2	4,3±0,4	4,1±0,3
Трихоплант	4,6±0,3	5,7±0,5	5,1±0,1

Таблица 3.

Влияние биопрепарата Трихоплант на изменение скорости прорастания семян различных сельскохозяйственных культур ($X \pm Sx$)

Вариант опыта	Скорость прорастания семян		
	Огурцов Феникс 640 0,6	Томат Агата	Пшеницы Заграва
Контроль	3,7±0,3	2,9±0,9	5,1±0,8
Трихоплант	4,3±0,5	3,9±0,8	6,1±0,5

По результатам проведенных исследований наиболее отзывчивым к действию биопрепарата оказался сорт огурцов Феникс 640, в связи с чем, дальнейшие исследования проводились на этой культуре. Проведенные исследования влияния препарата ТРИХОПЛАНТ на высоту надземной части растений огурцов на 7-е, 14-е и 21-е сутки показали, что по сравнению с контрольным вариантом опыта высота надземной части растений огурцов сорта Феникс 640 на 7-е и 14-е сутки увеличивалась на 12,5-39,1 % (табл. 5).

Проведенные исследования показали, что по сравнению с контролем обработка растений огурцов биопрепаратом Трихоплант способствовала увеличению сырой массы надземной части на 21,7 % и сырой массы

Таблица 4.

Влияние биопрепарата Трихоплант на изменение силы роста семян различных сельскохозяйственных культур ($X \pm Sx$)

Вариант опыта	Сила роста семян		
	Огурцов Феникс 640	Томата Агата	Пшеницы Заграва
Контроль	17,9±0,9	2,9±0,5	6,7±0,4
Трихоплант	20,6±0,8	3,4±0,4	7,3±0,3

Таблица 5.

Влияние биопрепарата Трихоплант на процессы роста и развития растений огурцов сорта Феникс 640 при однократной корневой обработке

Вариант опыта	Высота надземной части растений					
	7 сутки		14 сутки		21 сутки	
	см	% к контролю	см	% к контролю	см	% к контролю
Контроль	4,0±0,09	100,0	4,6±0,09	100,0	8,2±0,15	100,0
Трихоплант	4,5±0,11	112,5	6,4±0,07	139,1	8,3±0,07	101,2

системы на 2,2 %. Обработка биопрепаратом Трихоплант, так же способствовала увеличению сухой биомассы растений: по отношению к контролю масса надземной части увеличилась на 0,12 г (41,7%), а масса корневой системы напротив, снижалась на 0,019 г (или 5,9%) (табл. 6).

Таблица 6.

Влияние биопрепарата Трихоплант на процессы накопления биомассы растениями огурцов сорта Феникс 640

Вариант опыта	Сырая масса				Сухая масса			
	надземной части		Подземной части		надземной части		Подземной части	
	г	% к контролю	г	% к контролю	г	% к контролю	г	% к контролю
Контроль	1,59± 0,05	100,0	0,92± 0,07	100,0	0,12± 0,04	100,0	0,021± 0,19	100,0
Трихоплант	1,94± 0,04	121,7	0,94± 0,05	102,2	0,17± 0,016	141,7	0,019± 0,017	94,1

Биоконтролирующие свойства штамма

Trichoderma longibrachiatum GF 2/6. Проведенные исследования биологической эффективности штамма *Trichoderma longibrachiatum* GF 2/6, в подавлении роста колоний фитопатогенных микромицетов – возбудителей трахеомикозов, фузариозов, корневых гнилей и пятнистостей на примере *Fusarium avenaceum*, *F. solani* и *F. sporotrichioides*; *Alternaria* sp., *Phytophthora infestans*, *Rhizoctonia solani*, *Cladosporium cucumerinum* показали, что *T. longibrachiatum* начиная с третьих суток совместного культивирования с фитопатогенами, проявляет фунгистатический территориальный антагонизм, ограничивая разрастание колонии фитопатогенов по поверхности питательной среды (рис. 1).

На 4-5-е сутки совместного культивирования для всех исследуемых видов отмечено уменьшение зоны прироста колонии возбудителей микозов с началом проявления антибиотического и алиментарного антагонизма, что на 7-е сутки проявлялось в виде нарастания колонии триходермы на колонии патогенов (рис. 1, 2). При дальнейшем культивировании колонии фитопатогенов оказывались полностью подавлены колонией *Trichoderma*, а при микроскопическом исследовании таких колоний наблюдали картину прямого паразитизма *Trichoderma* на фитопатогене (рис. 5).

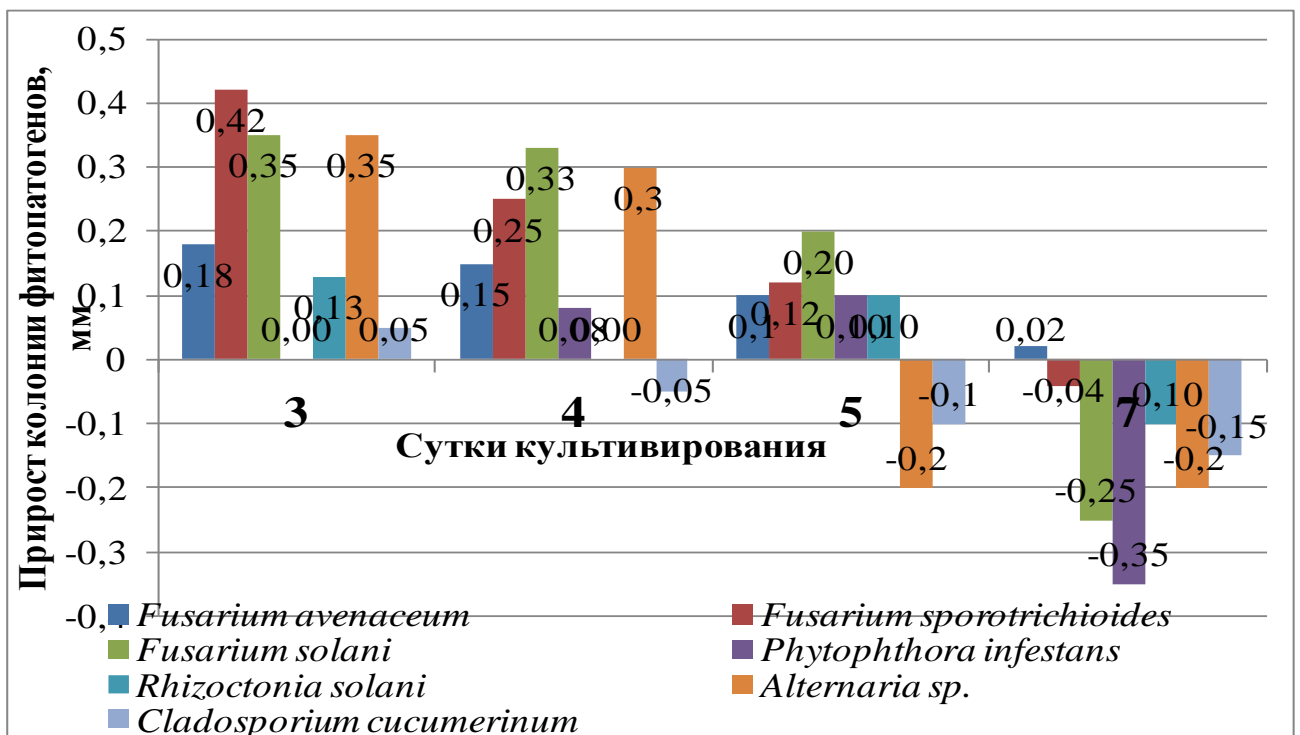


Рис. 1. Влияние *Trichoderma longibrachiatum* GF 2/6 на изменение прироста колоний фитопатогенных микромицетов – возбудителей трахеомикозов, фузариозов, оливковой пятнистости, ризоктониоза, альтернариоза и фитофторозов.

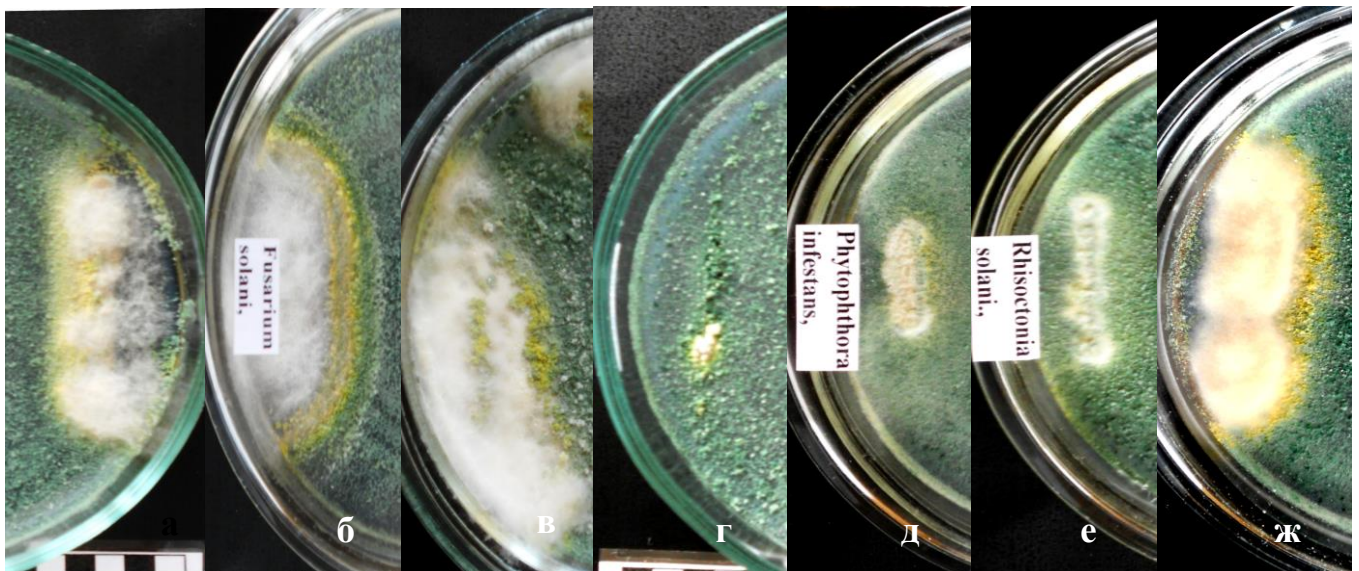


Рис. 2. Изменение морфологии колоний фитопатогенных микромицетов при их совместном культивировании с *T. longibrachiatum* GF 2/6 в течение 7 суток: а – *Fusarium avenaceum*, б – *Fusarium solani*, в – *Fusarium sporotrichioides*, г – *Cladosporium cucumerinum*, д – *Phytophthora infestans*, е – *Rhizoctonia solani*, ж – *Alternaria sp.*

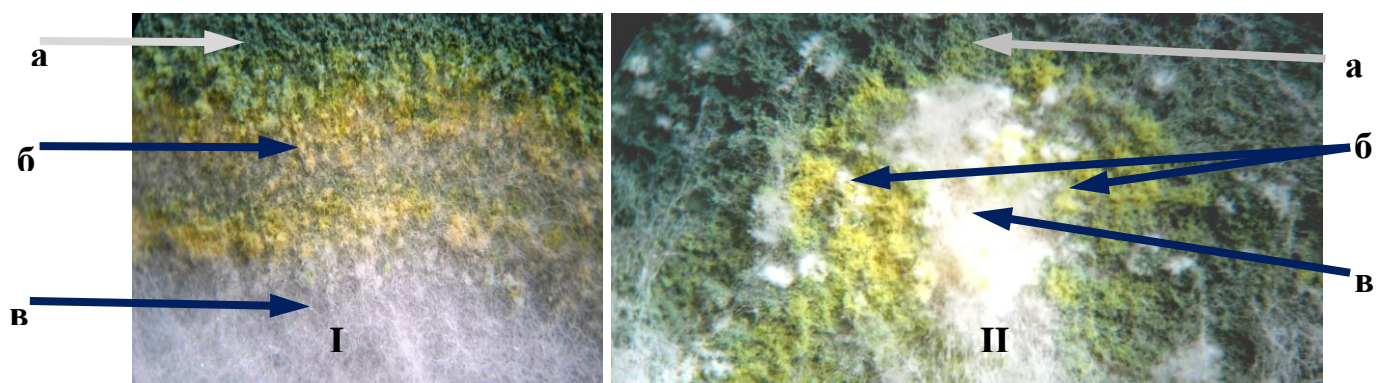


Рис. 3. Алиментарный фунгистатический антагонизм (прямой паразитизм) *T. longibrachiatum* GF 2/6 (ув. $\times 16$): **а** – зона роста колонии *Trichoderma*; **б** – зона роста и паразитизма *Trichoderma* на *F. solani* (I) или *F. sporotrichioides* (II); **в** – колония *F. solani* (I) или *F. sporotrichioides* (II).

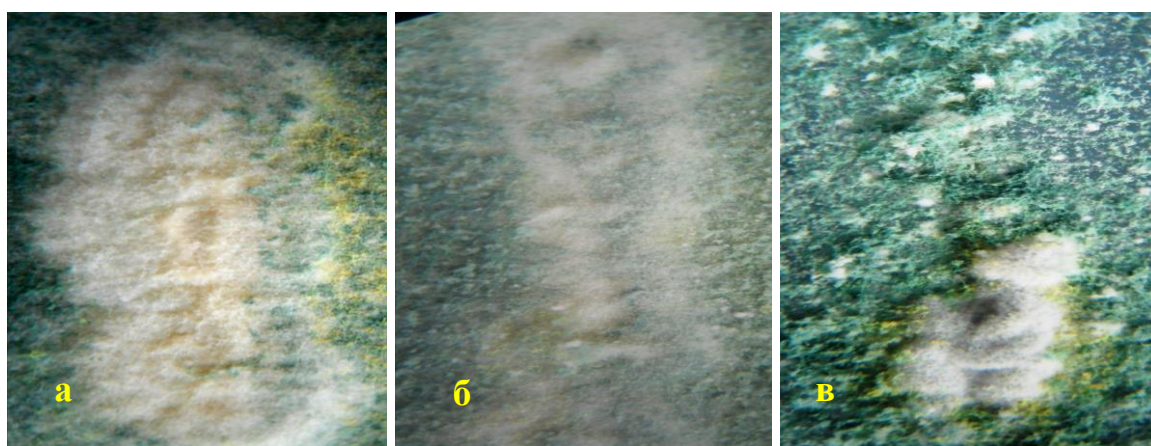


Рис. 4. Прямой паразитизм *T. longibrachiatum* GF 2/6 в отношении колоний *Cladosporium cucumerinum* (**а**), *Phytophthora infestans* (**б**), *Rhizoctonia solani* (**в**) (ув. $\times 16$).



Рис. 5. Гифы *T. longibrachiatum* GF 2/6 (указано стрелками), проникшие в гифы мицелия фитопатогенного микромицета *Rhizoctonia solani* (ув. $\times 1600$).

Заключение. Таким образом, по результатам проведенных исследований установлено, что проращивание семян пшеницы, огурцов и томатов на фоне биопрепарата ТРИХОПЛАНТ повышает энергию прорастания семян на 3-12%, всхожесть семян этих культур на 7-19%, и способствует увеличению силы роста семян на 0,5-2,4%. Проведенные исследования показали, что биопрепарат ТРИХОПЛАНТ, оказывает стимулирующее действие на рост растений огурцов. Под действием однократной обработки высота надземной части увеличивалась в среднем на 25,8%, сырая масса надземной части возрастает на 21%, а накопление сухого вещества надземной частью растений огурцов увеличивается на 41,7%.

Исследования биоконтролирующих свойств действующего начала биопрепарата ТРИХОПЛАНТ – микромицета *Trichoderma longibrachiatum* штамм GF 2/6 в отношении фитопатогенных микромицетов *Fusarium avenaceum*, *Fusarium solani*, *Fusarium sporotrichioides*, *Cladosporium cucumerinum*, *Phytophthora infestans*, *Rhizoctonia solani* и *Alternaria sp.* показали, что данный штамм обладает в определенной степени выраженной биологической эффективностью, т.е. проявляет в отношении изученных вобудителей заболеваний растений биоконтролирующие свойства, которые выражаются в прямом паразитировании (фунгистатическом алиментарном антагонизме) в отношении *Ph. infestans*, *Rh. solani*, *C. cucumerinum*, *F. sporotrichioides*, *F. solani*, *F. avenaceum*, и *Alternaria sp.*; фунгистатическом и территориальном антагонизме антагонизме – ограничении и подавлении развития мицелия фитопатогенов в отношении *F. avenaceum*, *F. solani*, *F. sporotrichioides*, *C. cucumerinum*, *Ph. infestans*, *Rh. solani* и *Alternaria sp.*

Список использованной литературы

1. Голованова Т.И., Долинская Е.В., Костицына Ю.Н. Влияние грибов рода *Trichoderma* на ростовые процессы растений пшеницы // Исследовано в России. – 2008. – С. 173-182
2. Александрова А.В. Род *Trichoderma* Pers.: Fr. // Новое в систематике и номенклатуре грибов / [Под ред. Ю.Т. Дьякова, Ю.В. Сергеева]. – М.: Национальная академия микологии, Медицина для всех, 2003. – С. 219-275.

3. Коломбет Л.В. Грибы рода *Trichoderma* – продуценты биопрепаратов для растениеводства // Микология сегодня. Т. 1. / Под ред. Дьякова Ю.Т., Сергеева Ю.В. – М.: Национальная академия микологии, 2007. – С. 323-371.
4. Рудаков О.Л. Микофильные грибы, их биология и практическое значение. – М.: Наука, 1981. – 160 с.
5. Сейкетов Г.Ш. Грибы рода *Trichoderma* и их использование в практике. – Алма-Ата: Наука, 1982. – 248 с.
6. Атеф Абдельмохсен Абдельрахман Ахмед. Влияние *Trichoderma* почв Египта и республики Татарстан на отдельные параметры живых систем: Автореф. дис. канд. биол. наук. – Казань, 2011. – 28 с.
7. Практикум по агрохимии: учебное пособие. – 2-е изд., перераб. и доп. /под. ред. академика РАСХН В.Г.Минеева. – М.: изд-во МГУ, 2001 – С.248–258.
8. Пospelов С. В. Влияние пространственного размещения семян эхинацеи на их прорастание //Лекарственное растениеводство: от опыта прошлого к современным технологиям: матер. Второй междунар. науч.-практ. интернет-конференции., Полтава, 2013. – С. 71-73.
9. Убугунов В.Л., Доржонова В.О. Оценка фитотоксичности свинца в дерново-подбуре. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://sun.tsu.ru/mminfo/000063105/338/image/338-207.pdf> (дата обращения: 13.04.2015).
10. Методика определения силы роста семян кормовых культур / В.И. Карпин, Н.И. Переправо, В.Н. Золотарев, В.Э. Рябова, Э.З. Шамсутдинова, Т.В. Козлова. М.: Изд-во РГАУ – МСХА, 2012. — 16 с.
11. Пат. 1671684 СССР, МПК⁵ C12N 1/14 A 01 N 63/04. Способ отбора штаммов грибов *Trichoderma* – антагонистов фитопатогенных грибов / Беяева В. Б., Худякова Е. А., Коган В. Ш., Ключников В. И. Заявитель и патентообладатель: Научно-исследовательский институт овощного хозяйства. - № 4722440/13; заявл. 30.06.89; опубл. 23.08.91. Бюл. № 31.