



Screening of strains of soil micromycetes – antagonists of fungal and bacterial plant pathogens

O. A. Drehval, V. V. Chyzhevska, N. V. Cherevach, A. I. Vinnikov

Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

Article info

Received 21.04.2017

Received in revised form

13.05.2017

Accepted 16.05.2017

Oles Honchar Dnipro
National University, Gagarin
Ave., 72, Dnipro, 49010, Ukraine.
Tel.: +38-056-760-85-14.
E-mail: microviro@ukr.net

Drehval, O. A., Chyzhevska, V. V., Cherevach, N. V., & Vinnikov, A. I. (2017). Screening of strains of soil micromycetes – antagonists of fungal and bacterial plant pathogens. Biosystems Diversity, 25(2), 108–112. doi:10.15421/011716

The antagonistic activity of 23 strains of micromycetes belonging to different taxonomic groups, against phytopathogenic bacteria and fungi was studied. The antagonistic activity of the micromycetes was tested by agar diffusion (the method of blocks). For the determination of the influence of the micromycetes on plants, spring barley seeds were treated by cultural liquid of fungi (dilution 1 : 10) for 24 hours and germinated in Petri dishes on moist filter paper. Two strains *Trichoderma longibrachiatum* 17 and *T. lignorum* 14 showed the highest antagonistic activity against the phytopathogenic bacteria and fungi. *T. longibrachiatum* 17 actively suppressed the growth of fungi *Fusarium oxysporum* 54201, *F. culmorum* 50716, *F. oxysporum* 12, *F. moniliforme* 23, *Cladosporium herbarum* 16878, *Alternaria alternata* 16, *Aspergillus niger* 25 and bacteria *Agrobacterium tumefaciens* 8628, *Xanthomonas campestris* 8003b, *Pectobacterium carotovorum* 8982, *Pseudomonas syringae* pv. *atropaciens* 8254, *P. syringae* pv. *lachrymans* 7595, zones inhibition of growth were 20.7–38.3 and 14.7–24.7 mm, respectively. The strain of *T. lignorum* 14 inhibited the growth of fungi *F. culmorum* 50716, *C. herbarum* 16878, *F. moniliforme* 23, *A. alternata* 16, *A. niger* 25 and bacteria *A. tumefaciens* 8628, *P. carotovorum* 8982, *P. syringae* pv. *atropaciens* 8254, *P. syringae* pv. *lachrymans* 7595, zones of inhibition of growth were 14.0–38.7 and 12.3–23.3 mm, respectively. Treatment of spring barley seeds by *T. longibrachiatum* 17 cultural liquid showed a positive effect on seed germination, both strains *T. longibrachiatum* 17 and *T. lignorum* 14 increased the dry weight of the roots (by 17.5% and 22.0%, respectively) and the stems (by 8.0%) of spring barley plants compared with the water-treated controls. The results presented in this article indicate that the strains *T. longibrachiatum* 17 and *T. lignorum* 14 can be recommended as promising microbial agents to protect plants from fungal and bacterial diseases.

Keywords: antimicrobial effect; *Trichoderma* spp.; biocontrol; plant diseases; phytotoxicity

Скринінг ґрунтових штамів мікроміцетів – антагоністів грибних і бактеріальних патогенів рослин

О. А. Дрегваль, В. В. Чижевська, Н. В. Черевач, А. І. Вінніков

Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара, Дніпро, Україна

Оцінено антагоністичну активність 23 штамів мікроміцетів, що відносяться до представників різних систематичних груп, відносно фітопатогенних бактерій і грибів і перевірено вплив найактивніших штамів на рослини ячменя ярого. Найвищу антагоністичну активність відносно фітопатогенів проявили штами *Trichoderma longibrachiatum* 17 та *T. lignorum* 14. Найбільший спектр активності виявлено у штама *T. longibrachiatum* 17, що пригнічував ріст семи тест-культур фітопатогенних грибів, представників родів *Fusarium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium* і бактерій *Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas campestris*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Pectobacterium carotovorum*. Обробка культуральною рідиною *T. longibrachiatum* 17 позитивно впливала на проростання насіння ячменя ярого, обидва штами мікроміцетів *T. longibrachiatum* 17 та *T. lignorum* 14 підвищували суху масу коренів (на 17,5% та 22,0%, відповідно) і пагонів (на 8,0%) рослин порівняно з контролем. Штами *T. longibrachiatum* 17 та *T. lignorum* 14 можуть бути використані для розробки біопрепарату захисту рослин від грибних і бактеріальних хвороб.

Ключові слова: антимікробна дія; *Trichoderma* spp.; біоконтроль; хвороби рослин; фітотоксичність

Вступ

Один із найвагоміших показників санітарного стану ґрунту – присутність у ньому фітопатогенних мікроорганізмів, здатних завдавати значних втрат сільському господарству. В Україні нараховується близько 100 збудників захворювань пшениці, 60 – кукурудзи, 50 – ячменю. Найнебезпечніші збудники хво-

роб рослин – фітопатогенні гриби, які за допомогою гідролітичних ферментів розчиняють оболонку клітини рослин та живляться її вмістом. Такий спосіб живлення властивий більшості грибів роду *Fusarium*, які вражають рослини родини злакових і пасльонових, зокрема *F. culmorum* – збудник однієї з найнебезпечніших хвороб картоплі – фузаріозного в'янення. Ураження рослин грибами роду *Fusarium* – основна причина

значних втрат зернових і картоплі (Iutynska et al., 2010). Ці фітопатогенні гриби здатні продукувати мікотоксини (фузарієву кислоту, трихотецени, зеараленон, фумонізін), які накопичуються в уражених тканинах рослин, що може представляти значний ризик для здоров'я людини та тварин під час їх застосування у продуктах харчування людини та кормах тварин (Basler, 2016; Shi et al., 2016; Oldenburg et al., 2017).

Фітопатогенні бактерії також володіють факторами патогенності, серед яких важливе значення мають гідролітичні ферменти – пектинази та целюлази, фітотоксини, фітогормони, засоби адгезії. Більшість фітопатогенних бактерій відносяться до родів *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Erwinia*, *Corynebacterium*, *Agrobacterium* (Iutynska et al., 2010).

Широке використання хімічних пестицидів у сільському господарстві спричинило забруднення екологічних систем і здійснило негативний вплив на здоров'я людини. Біологічні методи боротьби з фітопатогенами – найбільш екологічно-безпечні методи сучасного аграрного виробництва. До пригнічення росту фітопатогенів та гіперпаразитизму здатні мікроміцети, що відносяться до родів *Trichoderma*, *Ampelomyces*, *Trichothecium*, *Penicillium*, *Stachybotrys*, *Fusarium*, *Aspergillus* (Iutynska et al., 2010; Kurdish, 2011; Kaushal et al., 2013).

Представники роду *Trichoderma* широко розповсюджені в природі, це антагоністи багатьох фітопатогенних мікроорганізмів завдяки синтезу різних антибіотиків (глітоксин, гліовіридин, віридин, триходермін, триховіридин, соцукацилін, аламіцин), речовин антибактеріальної та протигрибкової дії (Iutynska et al., 2010; Asad et al., 2014; Van Bohemen et al., 2016) та гідролітичних ферментів (протеїнази, хітинази і β -1,3-глюканазы) (Consolo et al., 2012). Ці гриби здатні колонізувати кореневу систему багатьох видів рослин, синтезувати метаболіти, що підвищують стійкість до патогенів та активують захисні реакції рослин, пов'язані з утворенням реактивних видів кисню, оксиліпіну, фітоалексину тощо (Russo et al., 2015; De Palma et al., 2016). Триходерму успішно застосовують проти *Alternaria sp.*, *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium graminearum*, *F. solani*, *Pyricularia oryzae*, *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum* (Abdel-Fattah et al., 2007; Sawant, 2014; Prabhakaran et al., 2015; Zhang et al., 2016).

Для пригнічення розвитку хвороб сільськогосподарських культур також застосовують гриби-антагоністи роду *Penicillium*. Передпосівна обробка насіння злакових рослин культуральною рідиною *P. verrucosum* var. *cyclopium*, *P. bilai*, *P. multicolor* та *P. cyclopium* знижувала ураження ячменю та пшениці сажковими грибами. Пеніцили відомі як активні продуценти антибіотиків, які використовують не тільки в медицині та ветеринарії, а й у фітопатології. Хороші результати показав антибіотик гризофульвін у боротьбі з мікозами рослин (Domsh et al., 2007; Banani et al., 2016). Представники родів *Trichoderma*, *Verticillium*, *Aspergillus*, *Paecilomyces*, *Pyrenochaeta*, *Arthrobotris* перспективні для біоконтролю фітонематод. На їх основі для обмеження чисельності цих паразитів розроблено екологічно безпечні біопрепарати (Iutynska et al., 2010; Zhang et al., 2016).

Серед мікроскопічних грибів виявлено велику кількість токсинотвірних видів: *Aspergillus terreus*, *A. clavatus*, *Penicillium paulum*, *P. urticae*, *P. nigricans*, *Trichoderma viridae*. Такі види, як *Penicillium cyclopium*, *P. lapidosum*, *P. citrium* продукують пеніцилінову кислоту, патулін, цитрин – сполуки з фітотоксичною активністю та широким антимікробним спектром (Iutynska et al., 2010). Тому активні антагоністи патогенів рослин необхідно перевіряти на відсутність фітотоксичної дії.

Мета даної статті – оцінити антагоністичну активність ґрунтових мікроміцетів проти фітопатогенних бактерій та грибів, визначити їх вплив на рослини ярого ячменю.

Матеріал і методи досліджень

Об'єкт досліджень – 23 штами ґрунтових мікроміцетів, виділених із чорнозему звичайного, що зберігаються в колекції

мікроорганізмів кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології ДНУ імені Олеся Гончара. Антагоністичну активність мікроміцетів відносно фітопатогенних мікроорганізмів перевіряли методом дифузії в агар, вимірювали діаметр затримання росту тест-культур навколо блока (Egorov, 2004). Як тест-культуру використовували штами фітопатогенних бактерій із колекції відділу фітопатогенних бактерій Інституту мікробіології та вірусології (ІМВ) ім. Д. К. Заболотного НАН України: *Agrobacterium tumefaciens* 8628, *Xanthomonas campestris* 80036, *Pectobacterium carotovorum* 8982, *Pseudomonas syringae* pv. *atropaciens* 8254, *P. syringae* pv. *lachrymans* 7595 та фітопатогенних грибів із колекції відділу фізіології та систематики мікроміцетів ІМВ НАН України – *Fusarium oxysporum* 54201, *F. culmorum* 50716, *Cladosporium herbarum* 16878, штами з колекції кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології ДНУ імені Олеся Гончара, виділені зі зразків ґрунту, ураженого насіння та плодів – *F. oxysporum* 12, *F. moniliforme* 23, *Alternaria alternata* 16, *Aspergillus niger* 25. Фітопатогенні бактерії вирощували на м'ясо-пептонному агарі, фітопатогенні гриби – на картопляному агарі з 1% глюкози. Повторність дослідів триразова.

Для перевірки відсутності фітотоксичної дії мікроміцетів на рослини ярого ячменю сорту «Кристалія» гриби вирощували у рідкому середовищі Чапека на мікробіологічній качалці (200 об./хв) при 27 °C 10 діб. Насіння ячменю (20 насінин) обробляли культуральною рідиною у розведенні 1 : 10 упродовж 24 годин і пророщували у чашках Петрі на зволоженому фільтрувальному папері. На 6-ту добу досліду визначали відсоток пророслого насіння, довжину та суху масу коренів і надземної частини рослин. Як контроль використовували насіння оброблене стерильною водопровідною водою (Horshchar, 2013). Повторність дослідів – п'ятиразова.

Результати та їх обговорення

Для виявлення антагоністичної активності виділених штамів мікроміцетів використано 8 штамів фітопатогенних грибів – збудників фузаріозу (*Fusarium oxysporum* 12, *F. oxysporum* 54201, *F. culmorum* 50716, *F. moniliforme* 23), альтернarioзу (*Alternaria alternata* 16), чорної цвіль (*Aspergillus niger* 25), кладоспоріозу (*Cladosporium herbarum* 16878) та 5 штамів фітопатогенних бактерій – збудників некрозу, плямистостей, пухлин, гнилі (*Pseudomonas syringae* pv. *atropaciens* 8254, *P. syringae* pv. *lachrymans* 7595), судинного бактеріозу капусти (*Xanthomonas campestris* 80036), кореневого некрозу плодів дерев та інших сільськогосподарських культур (*Agrobacterium tumefaciens*) і мокрої гнилі (*Pectobacterium carotovorum* 8982).

З усіх перевірених штамів мікроміцетів найбільшу антагоністичну активність до грибних тест-культур проявила *Trichoderma longibrachiatum* 17, яка пригнічувала ріст усіх перевірених культур фітопатогенних грибів, діаметр зон затримання росту коливався у межах 20,7–38,3 мм (табл. 1). Високу активність показала також *Trichoderma lignorum* 14, спектр дії якої включав 5 із 7 штамів фітопатогенних грибів, діаметр зон затримання росту становив 14,0–38,7 мм. *Verticillium sp.* 24 та *Fusarium sambucinum* 21 проявили антагонізм до 4 тест-культур, ще 10 штамів мікроміцетів активні відносно 1–2 культур, інші штами мікроміцетів не проявили антагоністичної активності зовсім.

Висока антагоністична дія проти фітопатогенних бактерій простежувалася у тих самих штамів, що і проти фітопатогенних грибів. *T. longibrachiatum* 17 пригнічувала ріст усіх перевірених тест-культур фітопатогенних бактерій (зони пригнічення росту – 14,7–24,7 мм), *T. lignorum* 14 – 4 культур (зони пригнічення – 12,3–23,3 мм). *Verticillium sp.* 24 слабо пригнічував ріст лише трьох тест-культур фітопатогенних бактерій, а штам *F. sambucinum* 21 не впливав на ріст жодної із перевірених культур (табл. 2). Одинадцять штамів мікроміцетів показали незначні зони затримання росту від 1 до 3 культур фітопатогенів, інші були не активними.

Антагоністична активність грибів роду *Trichoderma* зумовлена здатністю продукувати різні метаболіти з антимікробною активністю. Завдяки цьому штами триходерми успішно застосовують у виробництві препаратів захисту рослин. Найчастіше для боротьби з грибними хворобами рослин використовують штами *T. harzianum*, *T. virens* і *T. viridae* (Kurdish, 2011). За літературними даними представники різних видів роду *Trichoderma* в умовах теплиці ефективно пригнічували розповсюдження хвороби бобів, спричиненої *Rhizoctonia solani* (Asad et al., 2014). *T. lignorum* застосовували для пригнічення випрівання проростків (хвороба «чорна ніжка») овочевих культур, боротьби зі збудниками кореневої гнилі озимої пшениці (Kurdish, 2011). У досліджен-

нях *in vitro* показано високу ефективність *T. longibrachiatum* проти *Alternaria solani* – збудника альтернаріозу пасльонових, *Sclerotinia sclerotiorum* – збудника білої гнилі різних культурних рослин (Prabhakaran et al., 2015). Більшість повідомлень стосується антифунгальної дії представників роду *Trichoderma*, проте є відомості щодо їх антибактеріальної активності (Vizcaino et al., 2005; Kaushal et al., 2013). Отримані нами дані свідчать про здатність досліджених штамів *T. longibrachiatum* 17 та *T. lignorum* 14 продукувати метаболіти з антифунгальною та антибактеріальною дією, особливо це стосується штаму *T. longibrachiatum* 17, який показав широкий спектр антимікробної активності: пригнічував ріст усіх протестованих культур фітопатогенних бактерій і грибів.

Таблиця 1

Антагоністична активність штамів мікроміцетів до фітопатогенних грибів ($x \pm SD$, $n = 3$)

Штами мікроміцетів	Діаметр зони пригнічення росту тест-культур, мм						
	<i>Fusarium oxysporum</i> 12	<i>Fusarium oxysporum</i> 54201	<i>Fusarium culmorum</i> 50716	<i>Fusarium moniliforme</i> 23	<i>Alternaria alternata</i> 16	<i>Aspergillus niger</i> 25	<i>Cladosporium herbarum</i> 16878
<i>Aspergillus ustus</i> 2	0	0	0	0	0	0	14,0 ± 0,6
<i>A. versicolor</i> 3	0	0	15,0 ± 0,6	0	0	0	0
<i>A. wentii</i> 10	0	0	0	0	0	0	0
<i>A. nidulans</i> 5	0	0	0	0	0	0	0
<i>A. fumigatus</i> 26	0	0	0	0	0	0	0
<i>A. flavus</i> 6	0	0	0	0	0	0	0
<i>A. terreus</i> 7	0	0	0	12,0 ± 1,2	0	0	10,3 ± 0,3
<i>Mortierella isabelina</i> 13	0	0	12,0 ± 1,2	11,0 ± 0,6	0	0	0
<i>Mucor hiemalis</i> 18	0	0	0	0	0	0	9,7 ± 0,3
<i>Penicillium citrinum</i> 8	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. corylophilum</i> 9	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. vinaceum</i> 11	0	0	0	0	0	0	0
<i>Penicillium sp.</i> 4	0	0	0	0	0	11,7 ± 0,9	0
<i>Penicillium sp.</i> 8	0	10,7 ± 0,3	0	0	0	0	10,3 ± 0,3
<i>Trichoderma sp.</i> 1	0	26,3 ± 0,7	22,0 ± 1,2	0	0	0	15,0 ± 0,6
<i>T. viride</i> 15	0	0	0	0	0	22,3 ± 1,5	0
<i>T. koningii</i> 19	0	0	0	0	0	0	15,0 ± 0,6
<i>T. lignorum</i> 14	0	0	38,7 ± 1,4	17,0 ± 0,6	14,0 ± 0,6	36,7 ± 0,9	21,7 ± 0,9
<i>T. longibrachiatum</i> 17	20,7 ± 0,7	32,7 ± 1,7	35,7 ± 1,2	22,0 ± 1,2	35,0 ± 0,6	38,3 ± 0,9	29,0 ± 1,0
<i>Torula sp.</i> 20	0	0	0	0	0	0	0
<i>F. sambucinum</i> 21	0	26,3 ± 0,7	16,0 ± 1,2	29,3 ± 0,7	0	16,3 ± 0,9	0
<i>F. poae</i> 22	0	0	0	0	16,3 ± 0,9	14,0 ± 1,2	0
<i>Verticillium sp.</i> 24	12,7 ± 0,7	0	0	16,7 ± 0,7	12,7 ± 0,7	13,0 ± 0,6	0

Таблиця 2

Антагоністична активність штамів мікроміцетів до фітопатогенних бактерій ($x \pm SD$, $n = 3$)

Штами мікроміцетів	Діаметр зони пригнічення росту тест-культур, мм				
	<i>Pectobacterium carotovorum</i> 8982	<i>Xanthomonas campestris</i> 80036	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 8628	<i>Pseudomonas syringae pv. atrofaciens</i> 8254	<i>Pseudomonas syringae pv. lachrymans</i> 7595
<i>Aspergillus ustus</i> 2	0	0	0	0	0
<i>A. versicolor</i> 3	0	0	0	0	0
<i>A. wentii</i> 10	0	0	0	0	0
<i>A. nidulans</i> 5	0	0	0	9,7 ± 0,3	0
<i>A. fumigatus</i> 26	0	0	0	0	0
<i>A. flavus</i> 6	9,7 ± 0,3	0	13,0 ± 0,6	10,0 ± 0,6	0
<i>A. terreus</i> 7	10,3 ± 0,3	0	11,3 ± 0,7	0	0
<i>Mortierella isabelina</i> 13	10,0 ± 0,6	0	12,0 ± 0,2	10,0 ± 0,6	0
<i>Mucor hiemalis</i> 18	0	0	0	0	0
<i>Penicillium citrinum</i> 8	0	0	11,7 ± 0,9	10,3 ± 0,3	0
<i>P. corylophilum</i> 9	0	0	0	0	0
<i>P. vinaceum</i> 11	0	0	0	13,7 ± 0,9	0
<i>Penicillium sp.</i> 4	0	0	0	0	0
<i>Penicillium sp.</i> 8	9,7 ± 0,3	0	0	0	0
<i>Trichoderma sp.</i> 1	11,0 ± 0,6	0	0	0	0
<i>T. viride</i> 15	0	0	0	10,0 ± 0,3	0
<i>T. koningii</i> 19	0	0	10,0 ± 0,6	10,0 ± 0,6	0
<i>T. lignorum</i> 14	23,3 ± 1,6	0	19,7 ± 1,9	12,3 ± 2,6	14,0 ± 0,6
<i>T. longibrachiatum</i> 17	24,7 ± 1,3	22,7 ± 4,0	19,3 ± 0,7	20,0 ± 1,2	14,7 ± 0,3
<i>Torula sp.</i> 20	0	0	0	0	0
<i>F. sambucinum</i> 21	0	0	0	0	0
<i>F. poae</i> 22	0	0	0	0	0
<i>Verticillium sp.</i> 24	0	0	10,3 ± 0,3	0	11,3 ± 0,3

Крім вищеописаних штамів мікроміцетів роду *Trichoderma* антифунгальну дію проявляв *F. sambucinum* 21, що пригнічував ріст трьох штамів грибів роду *Fusarium* і штаму *A. niger* 25. Із літературних джерел добре відомо про існування внутрі-

шньовидового та родового антагонізму *Fusarium spp.* за даними Kurdish (2011) спостерігали зниження метаболічної активності та щільності популяції *Fusarium oxysporum sp. lini* на поверхні коріння льону при співвідношенні непатогенних фуза-

ривів до патогенних 10 : 1, яке склалося в результаті інтродукції в агроєкосистему непатогенного штаму *Fusarium oxysporum* Fo 47 і *Pseudomonas putida* WCS 358. Є також повідомлення про виділення з коріння *Mentha longifolia* L. (Labiatae), що росте в Саудовській Аравії, ендоефітного гриба *Fusarium sp.*, який продукував антибіотичну сполуку фузарипептид А. Цей циклодепептид проявляв високу антифунгальну активність до *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* та *Aspergillus fumigatus* та інсектицидну дію проти малярійного комара (Ibrahim, 2017). Проте у наших досліджах спектр антимікробної дії штаму *F. sambucinum* 21 значно поступався *T. longibrachiatum* 17 та *T. lignorum* 14. Таким чином, за рівнем активності, спектром антифунгальної та антибактеріальної дії серед досліджених штамів мікроміцетів найперспективніші для подальших досліджень зі

створення засобів захисту рослин від хвороб – штами *T. longibrachiatum* 17 та *T. lignorum* 14.

Отцінюючи потенціал мікробів-антагоністів фітопатогенів, слід враховувати вплив їх метаболітів на ріст і розвиток рослин. Із цією метою визначають фітотоксичність культуральних рідин цих мікроорганізмів. Нами досліджено вплив найактивніших штамів мікроміцетів *T. longibrachiatum* 17 та *T. lignorum* 14 на ростові показники ярого ячменю сорту «Кристалія». Порівнювали довжину коренів і листків у проростків насіння, обробленого культуральними рідинами мікроміцетів у розведенні 1 : 10, з морфометричними показниками контрольних проростків, оброблених стерильною водою. За даними Horshchar (2013) токсичними вважають культури, які пригнічують ріст пагонів і коренів на 30% і більше порівняно з контролем.



Рис. 1. Вплив культуральних рідин мікроміцетів-антагоністів на проростання насіння ярого ячменю:

обробка культуральною рідиною *T. longibrachiatum* 17 (а) та *T. lignorum* 14 (б) не пригнічувала ріст і розвиток проростків порівняно з контролем (в); кількість пророслого насіння після обробки *T. longibrachiatum* 17 була більшою, ніж у контролі

Як видно з рисунку 1, негативного впливу культуральних рідин досліджуваних штамів на проростки ячменю не виявлено. Незважаючи на те, що середні значення довжини пагонів і коренів, рослин оброблених культуральною рідиною досліджуваних мікроміцетів перевищували такі в контролі (табл. 3), різниці значень ростових показників достовірно не відрізнялися ($P > 0,05$).

Таблиця 3

Вплив мікроміцетів-антагоністів на формування проростків ярого ячменю сорту «Кристалія» ($\bar{x} \pm SD$, $n = 5$)

Варіант обробки	Кількість пророслого насіння, %	Середня довжина пагонів, мм	Середня довжина коренів, мм
<i>T. longibrachiatum</i> 17	90,0 \pm 3,16*	75,2 \pm 3,31	478,6 \pm 43,77
<i>T. lignorum</i> 14	85,0 \pm 4,18	70,7 \pm 4,87	487,8 \pm 16,10
Контроль	78,0 \pm 6,04	66,2 \pm 3,96	437,1 \pm 30,30

Примітка: * – достовірність різниці порівняно з контролем $P < 0,05$.

Що стосується впливу культуральних рідин мікроміцетів на проростання насіння, то обробка *T. longibrachiatum* 17 збільшувала кількість пророслого насіння порівняно з контролем ($P < 0,05$), вищими також були показники сухої маси коренів і пагонів рослин ($P < 0,05$) за обробки мікроміцетами порівняно з контролем (рис. 2). Особливо високою була стимуляція розвитку кореневої системи. Штам *T. lignorum* 14 збільшував суху масу коренів на 22,0%, а *T. longibrachiatum* 17 – на 17,5%.

Отримані результати співпадають із даними літератури (Russo et al., 2015; De Palma et al., 2016): гриби роду *Trichoderma* здатні не тільки захищати рослини від хвороб, а й стимулювати їх ріст, позитивно впливати на метаболічні процеси. У тепличних досліджах показане збільшення на 18,0% сирої маси бобових рослин, оброблених *Trichoderma spp.* порівняно з необробленими рослинами (Asad et al., 2014). За даними De Palma et al. (2016), після обробки рослин томата культурою *T. longibrachiatum* МК1 посилюється транскрипція генів, що бе-

руть участь у захисних реакціях рослин, пов'язаних із утворенням реактивних форм кисню, потовщенням клітинної стінки. Автори вважають, що саме ці механізми зумовлюють підвищення резистентності рослин до фітопатогенів, індуковане обробкою триходермою. Russo et al. (2015) виділили з *T. longibrachiatum* МК1 білок гідрофобін, який безпосередньо активує захисну відповідь рослин, у тому числі утворення реактивних видів кисню, супероксиддисмутази, оксиліпіну, фітоалексину.

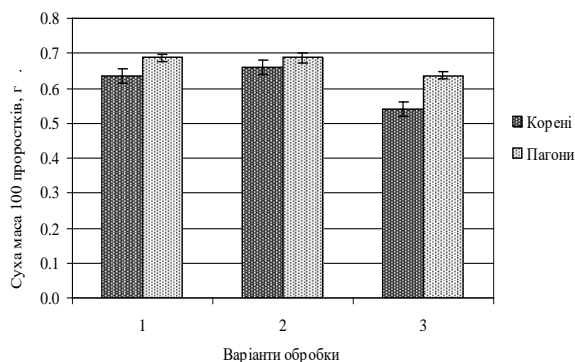


Рис. 2. Суха маса коренів і пагонів ярого ячменю сорту «Кристалія» за обробки культуральною рідиною мікроміцетів-антагоністів: 1 – *T. longibrachiatum* 17, 2 – *T. lignorum* 14; 3 – контроль

Виділений білок виявив пряму протигрибкову дію, а також стимулював ріст рослин. Зокрема, додавання у низьких концентраціях (1–5 μM) цього білка до поживного середовища пригнічувало проростання спор і розвиток гіф грибів *Botrytis cinerea* та *Alternaria alternata*. Обробка рослин томата 0,01 μM водним розчином білка на 50–100% підвищила ріст коренів, надземної частини, кількість листків і вологу вагу рослин порівняно з контролем. На думку авторів, гідрофобін являє со-

бою приклад молекулярного фактора, що продукується *Trichoderma spp.*, важливого для встановлення взаємодії з колонізованою рослиною.

Висновки

Із 23 досліджених штамів мікроміцетів найвищу антагоністичну активність проти фітопатогенних бактерій та грибів проявили *T. longibrachiatum* 17 та *T. lignorum* 14. Найбільший спектр активності виявлено у штама *T. longibrachiatum* 17, що пригнічував ріст семи тест-культур фітопатогенних грибів, представників родів *Fusarium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium* і п'яти тест-культур бактерій, що відносяться до *Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas campestris*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Pectobacterium carotovorum*. Обробка культуральною рідиною *T. longibrachiatum* 17 позитивно впливала на проростання насіння ячменю ярого. Обидва штами мікроміцетів (*T. longibrachiatum* 17 і *T. lignorum* 14) підвищували суху масу коренів (на 17,5% та 22,0%, відповідно) і пагонів (на 8%) рослин порівняно з контролем. Штами *T. longibrachiatum* 17 та *T. lignorum* 14 можна розглядати як перспективні біоагенти мікробного препарату для захисту рослин від грибних і бактеріальних хвороб.

References

- Abdel-Fattah, G. M., Shabana, Y. M., Ismail, A. E., & Rashad, Y. M. (2007). *Trichoderma harzianum*: A biocontrol agent against *Bipolaris oryzae*. *Mycopathologia*, 164(2), 81–89.
- Asad, S. A., Ali, N., Hameed, A., Khan, S. A., Ahmad, R., Bilal, M., Shahzad, M., & Tabassum, A. (2014). Biocontrol efficacy of different isolates of *Trichoderma* against soil borne pathogen *Rhizoctonia solani*. *Polish Journal of Microbiology*, 63(1), 95–103.
- Banani, H., Marcet-Houben, M., Ballester, A. R., Abbruscato, P., González-Candelas, L., Gabaldón, T., & Spadaro, D. (2016). Genome sequencing and secondary metabolism of the postharvest pathogen *Penicillium griseofulvum*. *BMC Genomics*, 17, 19.
- Basler, R. (2016). Diversity of *Fusarium* species isolated from UK forage maize and the population structure of *F. graminearum* from maize and wheat. *PeerJ*, 4, e2143.
- Consolo, V. F., Monaco, C. I., Cordo, C. A., & Salerno, G. L. (2012). Characterization of novel *Trichoderma spp.* isolates as a search for effective biocontrollers of fungal diseases of economically important crops in Argentina. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(4), 1389–1398.
- De Palma, M., D'Agostino, N., Proietti, S., Bertini, L., Lorito, M., Ruocco, M., Caruso, C., Chiusano, M. L., & Tucci, M. (2016). Suppression subtractive hybridization analysis provides new insights into the tomato (*Solanum lycopersicum* L.) response to the plant probiotic microorganism *Trichoderma longibrachiatum* MK1. *Journal of Plant Physiology*, 190, 79–94.
- Domsh, K. H., Gams, W., & Andersen, T. H. (2007). *Compendium of soil fungi*. IHW-Verlag, Eching.
- Egorov, N. S. (2004). *Osnovy uchenija ob antibiotikah* [Fundamentals of the doctrine of antibiotics]. Nauka, Moscow (in Russian).
- Horshchar, O. A. (2013). *Osnovni zbudnyky plisnjavinnja ta i'h fitotoksyczna dija na prorastajuče nasinnja jachmenju jarogo* [Main mold pathogens and their phytotoxic effect on the germinating seed spring barley]. *Bjuleten' Instytutu Sil'skogo Gospodarstva Stepovoї Zony Ukraїny*, 4, 70–73 (in Ukrainian).
- Ibrahim, S. R. M., Abdallah, H. M., Elkhayat, E. S., Al Musayeb, N. M., Asfour, H. Z., Zayed, M. F., & Mohamed, G. A. (2017). Fusaripeptide A: New antifungal and antimalarial cyclodepsipeptide from the endophytic fungus *Fusarium sp.* *Journal of Asian Natural Products Research*, 27, 1–11.
- Iutynska, G. O., & Ponomarenko, S. P. (eds.). (2010). *Bioreguljacija mikrobnorastitel'nyh sistem* [Bioregulation of microbial-plant systems]. Nichlava, Kiev (in Russian).
- Kaushal, K. S., Rao, D. V., & Amla, B. (2013). *In vitro* antimicrobial activities of endophytic fungi isolates from medicinal tree – *Melia azedarach* L. *Journal of Microbiology Research*, 3(1), 19–24.
- Kurdish, I. K. (2011). Perspektiva zastosuvannja mikrobiv-antagonistiv u zahisti agroekosistem vid fitopatogeniv [Prospects for microbial antagonists use in protection of agroecosystems from phytopathogenes] *Sil'skogospodars'ka Mikrobiologija*, 13, 23–41 (in Ukrainian).
- Oldenburg, E., Höppner, F., Ellner, F., & Weinert, J. (2017). *Fusarium* diseases of maize associated with mycotoxin contamination of agricultural products intended to be used for food and feed. *Mycotoxin Research*, 1–16.
- Prabhakaran, N., Prameeladevi, T., Sathiyabama, M., & Kamil, D. (2015). Screening of different *Trichoderma* species against agriculturally important foliar plant pathogens. *Journal of Environmental Biology*, 36(1), 191–198.
- Ruocco, M., Lanzuise, S., Lombardi, N., Woo, S. L., Vinale, F., Marra, R., Varlese, R., Manganiello, G., Pascale, A., Scala, V., Turrà, D., Scala, F., & Lorito, M. (2015). Multiple roles and effects of novel *Trichoderma* hydrophobin. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 28(2), 167–179.
- Sawant, I. S. (2014). *Trichoderma* – foliar pathogen interactions. *The Open Mycology Journal*, 8, 58–70.
- Shi, W., Tan, Y., Wang, S., Gardiner, D. M., De Saeger, S., Liao, Y., Wang, C., Fan, Y., Wang, Z., & Wu, A. (2016). Mycotoxigenic potentials of *Fusarium* species in various culture matrices revealed by mycotoxin profiling. *Toxins* (Basel), 9(1), E6.
- Van Bohemen, A. I., Zalouk-Vergnoux, A., Poirier, L., Phuong, N. N., Inguibert, N., Ben Haj Salah, K., Ruiz, N., & Pouchus, Y. F. (2016). Development and validation of LC-MS methods for peptaibol quantification in fungal extracts according to their lengths. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 1009–1010, 25–33.
- Vizcaíno, J. A., Sanz, L., Basilio, A., Vicente, F., Gutiérrez, S., Hermosa, M. R., & Monte, E. (2005). Screening of antimicrobial activities in *Trichoderma* isolates representing three *Trichoderma* sections. *Mycological Research*, 109(12), 1397–1406.
- Zhang, F., Ge H., Zhang F., Guo, N., Wang, Y., Chen, L., Ji, X., & Li, C. (2016). Biocontrol potential of *Trichoderma harzianum* isolate T-aloce against *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean. *Plant Physiology and Biochemistry*, 100, 64–74.
- Zhang, S. W., Xu, B. L., Xue, Y. Y., Liang, Q. L., & Liu, J. (2016). Efficiency of *Trichoderma longibrachiatum* T6 in the control of *Meloidogyne incognita* and its rhizosphere colonization in cucumber. *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao*, 27(1), 250–254.