

СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКІ НАУКИ

DOI: <https://doi.org/10.32839/2304-5809/2019-7-71-34>

УДК 579.64/635.03

Бальвас-Гремякова К.М.молодший науковий співробітник лабораторії мікробіометоду
Інститут захисту рослин
Національної академії аграрних наук України**Гораль С.В.**кандидат сільськогосподарських наук
Інститут захисту рослин
Національної академії аграрних наук України

РІСТИМУЮЮЧА АКТИВНІСТЬ МЕТАБОЛІТІВ ГРИБА РОДУ TRICHODERMA

Анотація. Мікроскопічні гриби *Trichoderma lignorum* широко поширені в світі в якості мікробіологічного агента в промисловій мікробіології. Мікробіологічні штами є активними продуцентами біологічно-активних речовин, серед яких антибіотики, вітаміни, ауксини, цитокини, гібереліни та інші. В проведених дослідженнях перевіряли стимулюючу дію метаболітів синтезованих штамми *Trichoderma lignorum* на прикладі рослин огірків на ранньому етапі онтогенезу (ВВСН 03-09). Показано, що інокуляція насіння метаболітами штамів *Trichoderma lignorum* СК і *Trichoderma lignorum* 93 чинить стимулюючий вплив на біолого-фізіологічні процеси в насінні та сянцях огірків за рахунок синтезованих фітогормональних речовин (індол-3-оцтова кислота, зеатин, гіберелінові кислота). Підвищуючи схожість та енергію проростання насіння на 20-25%, довжину кореня і проростка на 25,9% та 45,1% відповідно.

Ключові слова: метаболіти, *Trichoderma lignorum*, онтогенез рослин, фітогормони, культивування мікроорганізмів.

Balvas-Hremiakova Kateryna, Goral SergeyInstitute of Plant Protection
Of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine

STIMULATING ACTIVITY OF METABOLITES FUNGI OF THE GENUS TRICHODERMA ON PLANT GROWTH

Summary. Microscopic fungi of *Trichoderma lignorum* are often to use in the world as a microbiological agent in industrial microbiology. Microorganism are active producers of biologically active substances, among them antibiotics, vitamins, auxins, cytokines, gibberellins and other purpose. Aim. Research the stimulating effect of metabolites synthesized by the strains of the fungus-producing *Trichoderma lignorum* on the example of cucumber plants at an early stage of ontogeny. Methods. In the course of research, deep cultivation of microorganisms of the genus *Trichoderma* was carried out on maize-molasses medium. Metabolites solution was filtered through a layer of filter paper and for complete cleaning of working solution from mycelium and spores of the fungus carried centrifugation 8000 rpm. / min. Seeds of cucumber were inoculated supernatant solution and germinated in rolls of filter paper. Results. It is shown that seed treatment with metabolites of *Trichoderma lignorum* СК and *Trichoderma lignorum* 93 strains exerts a stimulating effect on biological and physiological processes in seeds and seedlings of cucumbers due to synthesized hormonal substances of plants (indole-3-acetic acid, zeatin, gibberellin acid) Conclusions. When inoculated with cucumber seeds by metabolites synthesized during in-depth cultivation of strain *Trichoderma lignorum* СК germination and germination energy of the seeds was 90% and 100%, whereas, when treated with the supernatant of the strain *Trichoderma lignorum* 93 culture fluid, the germination was less than 80%. When active metabolites get into the seedlings, the root length increased by an average of 25,9%, indicating the activation of growth processes in the tissues of palisade and spongy mesophyll.

Keywords: metabolites, *Trichoderma lignorum*, ontogeny of plants, auxins, cultivation of microorganisms.

Постановка проблеми. В останні роки перед світом стала необхідність відтворення та збереження біологічного різноманіття фітоценозів на рівні, що забезпечує стабільність природного середовища. Концепція сталого розвитку лежить в основі біологічного землеробства стратегічним напрямом якого є розроблення технологій отримання та практичного застосування нових екологічно безпечних біопрепаратів. Мікроскопічні гриби роду *Trichoderma* є одними з поширених агентів біологічного контролю в світі. *Trichoderma* – гриб-

сапрофіт відділу Ascomycota, родини Нуросреасеае. Різні різновиди цього гриба використовують у сільському господарстві в боротьбі з багатьма фітопатогенами культур, як відкритого так і закритого ґрунту. Це обумовлено безліччю фактів серед яких висока антагоністична активність гриба проти фітопатогенів, а також можливість культивування агенту в промисловій мікробіології.

Окрім прямої антагоністичної активності проти збудників хвороб, гриби роду *Trichoderma* здатні стимулювати ріст і розвиток рослини

в цілому. Процеси підвищення активності в рослині відбувається під впливом метаболітів гриба виділених в екологічне середовище існування біологічного об'єкта(рослин).

Природа і склад метаболітів різняться в залежності від параметрів культивування в яких вирощенні мікробіологічні клітини(тривалість, температура, живильні середовища).

Аналіз останніх досліджень і публікацій. З літературних даних відомо, що гриби роду *Trichoderma* здатні синтезувати ауксини, гібереліни, цитокініни, абсцизову кислоту та етилен, що є фітогормонами рослин, які відповідають за утворення коренів, переходу від сім'ядольних листків до звичайних, цвітіння і досягання плодів, а також процесами старіння і відмирання. Дослідженням властивостей фізіолого-біологічних властивостей грибів роду *Trichoderma* при глибинному культивуванні та їх впливу на рослини займалися В. Білай (1961, 1967), О. Логінов (2011), И. Корсак (2010, 2011, 2015) J. Villareal (2003), С. Sunil (2011).

Виділення не вирішених раніше частин загальної проблеми. Для більшості штамів *Trichoderma lignorum* вивчено і показано природну і штучну антагоністичну активність, то фітостимулююча дія отриманих при промисловому культивуванні грибів роду *Trichoderma* не вивчена в повному обсязі.

Мета статті. Головною метою роботи є дослідити фітостимулюючу дію метаболітів синтезованих штамми гриба-продуцента *Trichoderma lignorum* на прикладі рослин огірків на ранньому етапі онтогенезу.

Виклад основного матеріалу. В наших дослідженнях було проведено глибинне культивування штамів грибів *Trichoderma lignorum* СК (виділений із субстрату Київська обл.) і *Trichoderma lignorum* 93(еталонний штам із колекції лабораторії мікробіологічного методу захисту рослин ІЗР НААН) в колбах ємністю 150 мм які були заповнені по 70 мл рідким поживним кукурузно-м'ясосовим середовищем на мікробіологічній качалці (120 об/хв.) при температурі 24°C, через 48 і 72 години з качалки знімалося по одній пробі. Після була проведена фільтрація культуральної рідини через фільтрувальний папір до прозорого розчину стерильною водопровідною водою. Повне відокремлення культуральної рідини від міцелію і спор гриба проводили шляхом центрифугування при 8000 об.\хв. Для подальших досліджень з вивчення прямої та опосередкованої дії метаболітів на фізіологічні процеси в рослинах огірків використовували відібраний за допомогою піпетки супернатант у кількості 50 мл.

Насіння огірків гібриду Кураж F1 замочували в 10% розчині супернатанту культуральної рідини впродовж 3-х годин. Насіння огірків в кількості 30 штук в трьох повторностях розклали у рулони між двома шарами фільтрувального паперу, і витримували 7 діб в термостаті при температурі 22°C для пророщування. На третю добу була підрахована енергія проростання. Для оцінки ріст стимулюючої дії на 7 добу вимірювали наступні параметри схожість насіння, довжину основного кореня і стебла.

Отриманні результати енергії проростання і схожості насіння були переведенні у відсотки, де 100% це загальна кількість насінин у пробі.

Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою функції «Аналіз даних» програми Microsoft Office Excel.

Результати біологічних випробувань показали, що штами *Trichoderma lignorum* СК і *Trichoderma lignorum* 93 при глибинному культивуванні продукують метаболіти, які здійснюють біолого-фізіологічний вплив на процеси органогенезу рослин огірків на ранніх етапах онтогенезу. Слід зазначити, що в попередніх дослідженнях два штами показали високу продуктивність при глибинному культивуванні вихід біомаси *Trichoderma lignorum* СК і *Trichoderma lignorum* 93 становив 14,7 г/л і 13,5 г/л відповідно [5].

В таблицях 1,2 наведені дані про фізіологічні показники рослин огірків оброблених розчином фільтрованої культуральної рідини у різні фази культивування штаму. Обидва штами *Trichoderma lignorum* 93 і *Trichoderma lignorum* СК мають стимулюючий вплив на ріст і розвиток рослин огірків в ювенільний період (фаза ВВСН 03-10)

Однак, саме в фазу еспотенціального росту мікроскопічних грибів *Trichoderma* в культуральну рідину виділяються дві групи фітогормонів ауксини(індол-3-оцтова кислота) і цитокініни(зеатин) які діють одночасно на насіння по-перше, виводячи зі стану спокою та по-друге стимулюють біохімічний синтез білків та інших макромолекул в клітинах. Енергія проростання насіння огірка у варіантах оброблених супернатантом культуральної рідини становила 90% у варіанті з використанням метаболітів *Trichoderma lignorum* СК і 80% у варіанті *Trichoderma lignorum* 93, що на 20-25,0% перевищувало показники контролю

Найбільші показники схожості 100,0% були зафіксовані у варіанті обробленим супернатантом культуральної рідини *Trichoderma lignorum* СК через 48 годин культивування.

Таблиця 1

Вплив метаболітів гриба *Trichoderma lignorum* СК на фізіологічні показники рослин огірків у фазу ВВСН 03-09

Варіант	Енергія, %	Схожість,%	Довжина кореня, см	Довжина проростку, см
Контроль	65,0	83,0	1,35	2,1
Супернатант культуральної рідини через 48 год культивування	90,0	100,0	1,7	2,9
Супернатант культуральної рідини через 72 год культивування	80,0	93,0	1,6	3,1
НІР05	–	–	0,18	0,53

Джерело: розроблено автором

При проростанні насіння огірка формує типовий стержневий корінь, від довжини якого залежить якість майбутньої кореневої системи і всіх бічних коренів. В наших дослідженнях довжина кореня оброблених супернатантом культуральної рідини грибів *Trichoderma lignorum* сягала 1,65 см (середнє по варіантам), в контролі довжина кореня залишалась 1,35 см. В ювенільний період розвитку відбувається ділення і специфікація клітин за участі багатьох біологічно активних речовин вітамінів, амінокислот, але головну роль відіграють фітогормони [4], а саме ауксини. Більшість гормонів синтезуються клітинами апікальної меристеми, але клітини також здатні поглинати необхідні речовини із середовища. Грунтові гриби *Trichoderma* синтезують індол-3-оцтову кислоту та її похідні [1] які відносяться до групи ауксинів. ІОК індукуює активний транспорт іонів H^+ із цитоплазми

в клітинну стінку, що сприяє розриву зв'язків кальцію з вуглеводними компонентами клітинної оболонки збільшуючи її пластичність активуючи функціональну активність специфічних клітин камбію тим самим стимулюючи розвиток кореня [2; 6]. За обробки насіння розчином метаболітів активні субстрації потрапляли на корені і збільшення довжини останнього в середньому на 0,35 см свідчить про активацію ростових процесів в тканинах палисадного та губчастого мезофілу.

Супернатант культуральної рідини *Trichoderma lignorum* СК та *Trichoderma lignorum* 93 (табл. 1, 2) чинив стимулюючу дію на проростки рослин огірка гібриду Кураж F1.

В результаті проведеної обробки насіння загальна довжина стебла збільшилась на 38% та 28% відповідно в порівнянні з необробленими рослинами.

Таблиця 2

Вплив метаболітів гриба *Trichoderma lignorum* 93 на фізіологічні показники рослин огірків у фазу ВВСН 03-09

Варіант	Енергія, %	Схожість, %	Довжина кореня, см	Довжина проростку, см
Контроль	65,0	83,0	1,35	2,1
Супернатант культуральної рідини через 48 год культивування	80,0	90,0	1,6	2,7
Супернатант культуральної рідини через 72 год культивування	75,0	90,0	1,5	2,4
НІР05	-	-	0,12	0,3

Джерело: розроблено автором

Активізація росту стебла відбувається за впливу гіберелінової кислоти, синтезованої і виділеної у середовище яка стимулює активне клітинне ділення і розтягнення клітин апікальної і латеральної меристеми.

Слід зазначити, що всі описані процеси в рослинах генетично-сформовані вже протягом мільйонів років і точна концентрація гормональних речовин, а саме послідовна дія ауксинів, цитокінінів і гіберелінів керує процесами росту і розвитку рослин протягом всього життєвого циклу [3; 7]. Однак ми говоримо про можливості сучасної науки, яка дозволяє вносити необхідні біологічно активні речовини для отримання максимального ефекту в короткі строки.

Висновки і пропозиції. Штами-продуценти *Trichoderma lignorum* мають не тільки прямий вплив на збудників завдяки комплексу антибіотиків і гідролітичних ферментів, а й опосередковано захищають рослину за рахунок метаболітів фітостимулюючої природи (індол-3-оцтова кислота, зеатин, гіберелінової кислота), що підвищують біологічну активність клітин. Впливаючи на показники схожості і енергії проростання насіння огірків, які підвищуються на 20-25 %. Крім того, метаболіти синтезовані штамами *Trichoderma lignorum* СК та *Trichoderma lignorum* 93 стимулюють ростову активність клітин меристеми довжина кореня і стебла в оброблених варіантах була більше на 25-30% в порівнянні з контролем.

Список літератури:

1. Билай В.И., Заневич В.Е. К вопросу о природе антагонизма грибов рода Триходерма. Антибиотики. Киев : Изд. АН УССР, 1961. С. 155–160.
2. Пыженков В.И., Малина М.И. Культурная флора Т.21 Тыквенные (огурцы, дыня). Москва : Колос, 1994. 228 с.
3. Ржевкая В.С., Омельченко А.В., Тепличная Л.М. Влияние совместного применения гумата натрия и микробиологического препарата «Эмбиго» на ростовые показатели растений огурца сорта Нежинский 12. *Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского Серия «Биология, химия»*. 2011. Том. 24 (63). №4. С. 218–223.
4. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений; под ред. Н.Н. Третьякова. Москва : Колос, 2000, 640 с.
5. Balvas-Hremiakova K., Goral S., Tkalenko G. Influence of nutrition elements on life and differentiation *Trichoderma lignorum* СК. *Magyar Tudományos Journal*. 2019. № 26. P. 3–5.
6. Hexon Angel Contegas-Cornejo, Lourdes Maci. *Trichoderma virens* a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*. 2009. Vol. 149. P. 1579–1592.
7. Sunil C., Bhavani R. Evaluation of seed dressing and soil application formulations of *Trichoderma* species for integrated management of dry root rot of chickpea Dubey. *Biocontr. sei. and Technol*. 2011. № 1-2. E. 93–100.

References:

1. Bilay V.I., Zanevich V.E. (1961). K voprosu o prirode antagonizma gribov roda *Trichoderma* [To the question of the nature of the antagonism of fungi of the genus *Trichoderma*]. *Antibiotiki*. Kyiv : Izd. AN USSR, pp. 155–160.
2. Pyzhenkov V.I., Malina M.I. (1994). Kul'turnaya flora T.21 Tykvennyye(ogurtsy, dynya) [Cultural flora Vol. 21 Pumpkin (cucumbers, melons)]. Moskva : Kolos, 228 p.
3. Rzhetskaya V.S., Omelchenko A.V., Teplichnaya L.M. (2011). Vliyaniye sovmestnogo primeneniya gumata natriya i mikrobiologicheskogo preparata «Embiko» na rostovyye pokazateli rasteniy ogurtsa sorta Nezhinskiy 12 [The effect of the combined use of sodium humate and Ambico microbiological preparation on the growth parameters of the cucumber plants variant of Nezhinsky 12]. *Uchenyye zapiski Tavricheskogo natsional'nogo universiteta im. V.I. Vernadskogo Seriya «Biologiya, khimiya»*. Vol. 24 (63). №4. P. 218–223.
4. Fiziologiya i biokhimiya sel'skokhozyaystvennykh rasteniy; pod red. N.N. Tretyakova. Moskva : Kolos, 2000, 640 p.
5. Balvas-Hremiakova K., Goral S., Tkalenko G. (2019). Influence of nutrition elements on life and differentiation *Trichoderma lignorum* CK. *Magyar Tudományos Journal*. № 26. P. 3–5.
6. Hexon Angel Contegas-Cornejo, Lourdes Maci. (2009). *Trichoderma virens* a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*. Vol. 149. Pp. 1579–1592.
7. Sunil C., Bhavani R. (2011). Evaluation of seed dressing and soil application formulations of *Trichoderma* species for integrated management of dry root rot of chickpea Dubey. *Biocontr. sei. and Technol.* № 1–2. E. 93–100.