

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ЗАЩИТА ГОРОХА И СОИ ОТ КОРНЕВЫХ ГНИЛЕЙ БИОПРЕПАРАТАМИ НА ОСНОВЕ *TRICHODERMA*

Щербакowa Татьяна, Пынзару Борис, *Институт Генетики, Физиологии и Защиты Растений АНМ*

The results of the laboratory investigations of the influence of the biopreparations Gliocladin-SC and Trichodermin-SC on the pathogen fungi, which cause the pea and soybean root rots, are represented. The biopreparations effect has been determined by the double cultures method, diffusion in agar and by growing seeds on the agar plates, inoculated with suspension of the pathogens spores. The biopreparation activity was evaluated against pathogen fungi *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium oxysporum*, *F. sporotrichiella* Bilai., *F. solani*, *Fusarium sp.*, *Rhizoctonia solani*. The biopreparations demonstrate antifungal activity against the pathogen microorganisms, causative agents of the pea and soybean root rots. The biologically active substances which are presented in the biopreparation, inhibit the pathogen development, forming the sterile zones of the growth suppression on the agar plates.

Key words: *antagonist, fungus, pathogen, biopreparations, peas, soybean, seeds, Gliocladin-SC, Trichodermin-SC.*

Сельское хозяйство последних лет претерпело изменения и часто в севообороте сокращают число полей, насыщая его культурой одного вида, либо используют монокультуру, что приводит к накоплению возбудителей болезней и вредителей и повышению их устойчивости к применяемым химикатам. В связи с этим, в агроценозе резко обедняется состав и численность полезной биоты, происходит потеря значительного числа антагонистов в почве, возрастает доля фитопатогенных и фитотоксичных грибов. В условиях необычайно высокого инфекционного фона корневые гнили растений становятся экологически неизбежным явлением. Для решения этих проблем основное внимание исследователей направлено на использование экологически безвредных препаратов и наиболее перспективной представляется биологическая защита растений. Биометод основан на использовании естественных антагонистов фитопатогенных микроорганизмов, одними из которых являются грибы рода *Trichoderma*. В связи с широким применением грибов этого рода в самых разных странах, накоплен огромный фактический материал, касающийся технологии получения биопрепаратов и их успешного применения.

Перспективным направлением в борьбе с болезнями растений является искусственное подселение в поверхностный слой почвы микроорганизмов-антагонистов. Это может быть непосредственное внесение биопрепарата в почву, предпосевная обработка семян, орошение и полив, добавление в почвенные смеси в теплицах, что способствует подавлению фитопатогенов, ускорению роста растений, увеличению размера корневой системы, повышению устойчивости к заболеваниям и увеличению урожайности. Одним из приемов, наиболее выгодным как с экономической, так и экологической точки зрения сдерживания численности популяций патогенных организмов в технологии возделывания сельскохозяйственных культур является предпосевная обработка семян. Она подавляет патогенную семенную и почвенную микофлору и снижает пораженность всходов болезнями.

Бобовые культуры горох и соя представляют большой интерес в севообороте зерновых хозяйств благодаря своей способности связывать атмосферный азот, что в большей степени обеспечивает повышение плодородия почвы. Однако как и другие культуры, поражаются многими болезнями. У бобовых очень часто наблюдается заболевание всходов, вызываемое патогенными грибами из различных систематических групп: *Fusarium sp.*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium debaryanum*, *Sclerotinia sclerotiorum*. У молодых растений поражаются боковые корешки и стержневой корень, они буреют, чернеют и отмирают. Стебли засыхают, бобы не завязываются, нередко происходит гибель растений [1].

Поскольку зеленый горошек используют в свежем виде как диетический продукт и для консервирования, а продукты переработки сои в детском и диетическом питании, медицине, пищевой и кондитерской промышленности, необходимо снижение объемов применения химических протравителей семян для получения экологически чистых продуктов питания. Поэтому **целью наших исследований** являлось определить действие биологических препаратов на основе грибов рода *Trichoderma* в подавлении патогенов, вызывающих корневые гнили гороха и сои, используя метод предпосевной обработки семян.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили в лабораторных условиях. Объектом исследований являлись грибы-антагонисты *Trichoderma virens* Miller, Giddens and Foster штамм 3X, коллекционный номер в Государственной коллекции непатогенных микроорганизмов Республики Молдова CNMN-FD-13 и *Trichoderma lignorum* (Tode) Harz. штамм M-10 (коллекционный номер CNMN-FD-14), а также жидкие формы биопрепаратов Gliocladin-SC и Trichodermin-SC, содержащие живые клетки данных микроорганизмов. Материалом для исследований служили семена и растения гороха сорта Omega и сои сорта Аура. Из пораженных растений стандартным методом [2] были выделены патогенные грибы, возбудители фузариозного комплекса корневых гнилей – *Fusarium oxysporum*, *F.solani*, *F.sporotrichiella* Bilai, *Fusarium sp.*, возбудитель белой гнили *Sclerotinia sclerotiorum*, возбудитель ризоктониоза *Rhizoctonia solani*. Антагонистическую активность грибов *T.virens* 3X и *T. lignorum* M-10 по отношению к патогенам определяли методом двойных культур. Методом диффузии в агар с использованием металлических цилиндров и бумажных фильтров определяли антифунгальную активность биологически активных веществ (БАВ), содержащихся в препаратах [3]. Опыты проводили в чашках Петри на агаризованных питательных средах (сусло-агар, картофельно-сахарозный). Инкубировали при температуре, оптимальной для патогенов. В случае проявления БАВ антибиотической активности, между фильтром (цилиндром) и выросшей культурой патогена должна образоваться стерильная зона подавления роста. Через четыре-пять дней измеряли диаметр образовавшихся зон.

Антифунгальную активность биопрепаратов по отношению к патогенам изучали методом проращивания семян на агаровых пластинках с инфекционной нагрузкой [2]. В центр пластинки помещали агаровый блок, заросший патогеном (диаметр 8 мм). На расстоянии 2-3 см от блока раскладывали по 8-10 семян, предварительно обработанных биопрепаратами. В контрольном варианте – обработка семян стерильной водой.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Из семян и корней растений гороха и сои были выделены в чистую культуру патогены *Fusarium oxysporum*, *F.solani*, *F.sporotrichiella* Bilai, *Fusarium sp.*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani*. При определении антагонистической активности продуцентов биопрепаратов в отношении выделенных патогенов (метод двойных культур) отмечено, что при встречном росте после смыкания колоний двух микроорганизмов гриб *T.virens* нарастал на колонии выделенных патогенов и полностью колонизировал их, проявляя микопаразитический характер антагонизма. Гриб *T.lignorum* проявлял другой вид антагонизма – это конкуренция за питательные вещества и за пространство – быстрое размножение и вытеснение патогена. При этом размеры колоний патогенов были более чем в пять раз меньше размеров колоний продуцента, наблюдалась их частичная колонизация (рис. 1).

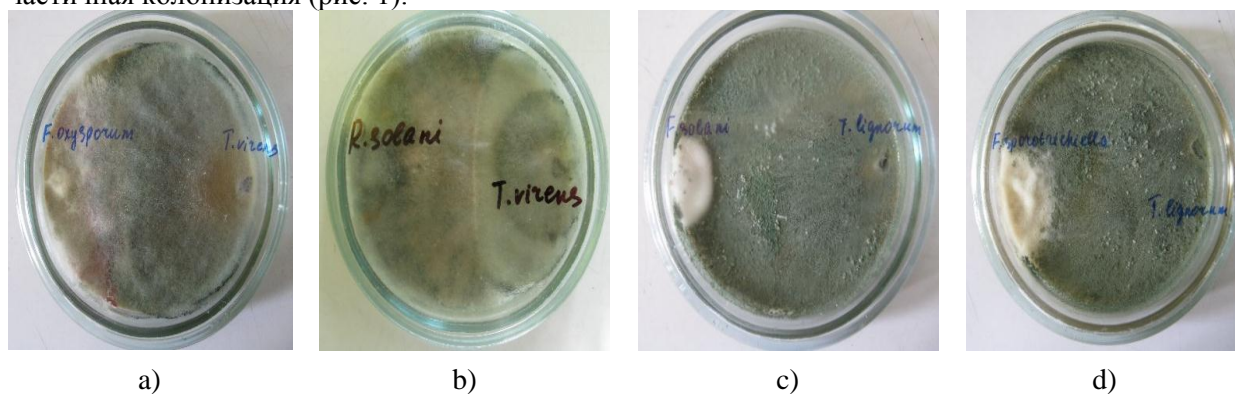


Рис. 1. Метод двойных культур.

Колонизация патогенов грибом *T.virens*: а) – *F.oxysporum*, б) – *Rhizoctonia solani*

Механизм конкуренции гриба *T.lignorum* в отношении: с) – *F.solani*, д) – *F.sporotrichiella*

При исследовании методом диффузии в агар антифунгального действия биологически активных веществ, образовавшихся во время производства биопрепаратов, была отмечена высокая чувствительность патогенов к биопрепарату Gliocladin-SC: диаметр стерильной зоны подавления

роста в отношении *S.sclerotiorum*, выделенного из бобов гороха был равен 45 мм, *F.sporotrichiella*, выделенного из семян сои составил 60 мм, патогена *F.oxysporum* - 42 мм, *F.solani* – 11,5 мм, *Fusarium sp.* - 23 мм, *R. solani* - 21 мм (табл. 1, рис. 2).

Таблица 1. Зоны задержки роста фитопатогенов при воздействии биопрепарата Gliocladin-SC

№	Патоген	Диаметр зон подавления роста, мм
1	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	45±0,3
2	<i>Fusarium oxysporum</i>	42±0,24
3	<i>F.sporotrichiella</i>	60±0,2
4	<i>F.solani</i>	11,5±0,3
5	<i>Fusarium sp.</i>	23±0,7
6	<i>Rhizoctonia solani</i>	21±0,45

Рис. 2. Антифунгальное действие биопрепарата Gliocladin-SC на патогены: а) – *F. sporotrichiella*, б) – *F. oxysporum*, в) – *Sclerotinia sclerotiorum*, г) – *Rhizoctonia solani*

1 – контроль, 2 – опыт (метод диффузии в агар).

Изучение антифунгальной активности биопрепаратов методом проращивания семян на агаровых пластинках (с инфекционной нагрузкой) по отношению к патогену *Fusarium sp.*, выделенному из корней растения гороха показало, что в контроле на 5-6-е сутки все семена были поражены патогеном, полностью заселившим субстрат. В опытных чашках при обработке семян биопрепаратом Gliocladin-SC диаметр колонии патогена составил 23-25 мм, патоген был колонизирован продуцентом, на остальной поверхности субстрата интенсивно развивался антагонист и сдерживал рост возбудителя болезни, поражения ростков и корешков отмечено не было (табл. 2, рис. 3).

Таблица 2. Влияние обработки семян биопрепаратами на проращивание семян гороха и сои на агаровых пластинках с инфекционной нагрузкой

Вариант	горох		Соя	
	% пораженных семян	диаметр колонии патогена	% пораженных семян	диаметр колонии патогена
фон <i>Fusarium</i>				
Контроль	100	90±0	100	90,0±0
Gliocladin-SC	0	23,2±0,4	0	25,1±0,5
Trichodermin-SC	0	28,9±0,3	0	30,3±0,3
фон <i>Sclerotinia</i>				
Контроль	100	90,0±0	100	90,0±0
Gliocladin-SC	0	20,1±0,2	0	23,3±0,8
Trichodermin-SC	0	30,0±0,1	0	27,8±0,2
фон <i>Rhizoctonia</i>				
Контроль	100	90,0±0	100	90,0±0
Gliocladin-SC	0	22,1±0,3	0	21,5±0,4
Trichodermin-SC	0	29,9±0,6	0	30,1±0,3

При обработке семян биопрепаратом Trichodermin-SC диаметр колонии патогена составлял 28-30 мм, в последующие сутки дальнейшего роста *Fusarium sp.* не происходило, развитие ростков и корешков было удовлетворительно.

Аналогичная картина наблюдалась при проращивании семян сои, в контроле полное поражение семян патогеном *F.sporotrichiella*, в опытных вариантах антагонисты сдерживали развитие возбудителя.

При проращивании семян на агаровых пластинках с инфекционной нагрузкой *S.sclerotiorum* и *R. solani* на 6-е сутки в контрольном варианте отмечена гибель всех семян и проростков, патогены полностью освоили субстрат. В опытных чашках при обработке семян биопрепаратом Gliocladin-SC продуцент *T. virens* колонизировал патогены как *S.sclerotiorum*, так и *Rhizoctonia solani*. При обработке семян биопрепаратом Trichodermin-SC диаметр колоний патогенов составлял 20-30 мм, продуцент *T. lignorum* сдерживал и подавлял развитие патогенов, гибели семян не наблюдалось (табл. 2, рис. 3).

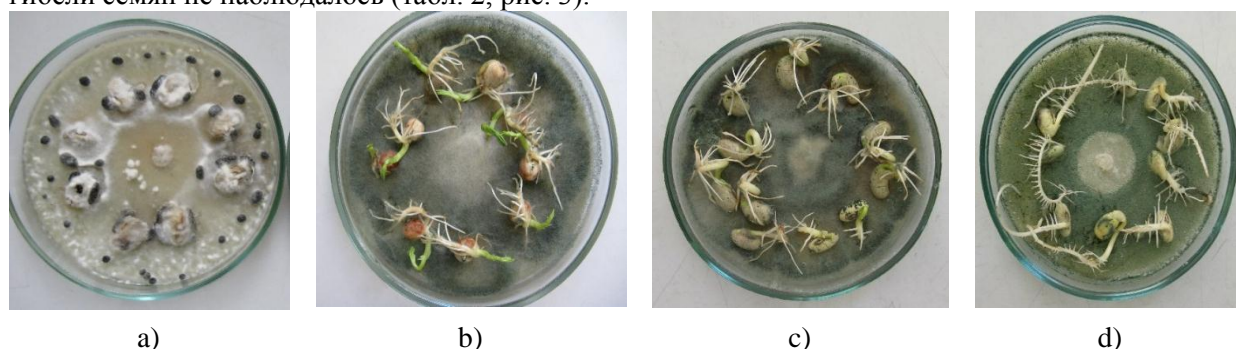


Рис. 3. Проращивание семян гороха и сои на агаровых пластинках с инфекционной нагрузкой
а) – контроль, гибель семян сои с инфекционной нагрузкой *Sclerotinia sclerotiorum*;
б) – обработка семян гороха Gliocladin-SC на инфекционнм фоне *Rhizoctonia solani*;
в) – обработка семян сои Gliocladin-SC на инфекционнм фоне *Fusarium sp.*;
д) – обработка семян сои Trichodermin-SC на инфекционнм фоне *S.sclerotiorum*.

Биологические препараты Gliocladin-SC и Trichodermin-SC на основе живых спор грибов *Trichoderma* оказывают антифунгальное действие в отношении патогенных грибов *Fusarium sp.*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani*, подавляют развитие патогенных микроорганизмов, возбудителей корневых гнилей гороха и сои, проявляют микопаразитический характер антагонизма и один из классических механизмов биоконтроля – механизм конкуренции – быстрое размножение и вытеснение патогена. Использование биопрепаратов для предпосевной обработки семян будет способствовать оздоровлению семенного материала, нейтрализации семенной инфекции, увеличению числа антагонистов в почве, улучшению фитосанитарной обстановки в агроценозах.

Проводимые нами тестирования биопрепаратов Gliocladin-SC и Trichodermin-SC по защите сои от корневых гнилей в полевых условиях на естественном и инфекционных фонах показали их высокую биологическую эффективность. Инфекционные фоны создавали внесением в почву патогенных грибов, выращенных на зерновом субстрате – *S.sclerotiorum* (фон *Sclerotinia*) и *F.sporotrichiella* (фон *Fusarium*) в борозды во время посева семян по 20 г/пог.м. Биопрепараты применяли методом предпосевной обработки семян. Эффективность препарата Gliocladin-SC в снижении развития корневых гнилей сои на естественном фоне составила 84,9%, на фоне *Sclerotinia* – 60,8%, на фоне *Fusarium* – 72,0%. Эффективность биопрепарата Trichodermin-SC составила 73,6%, 57,3% и 66,7%, соответственно фонам, по сравнению с контролем [4].

По результатам проводимых нами исследований биопрепараты Gliocladin-SC и Trichodermin-SC внесены в Государственный регистр средств фитосанитарного назначения и средств, повышающих плодородие почвы Республики Молдова под номером 08-02-0406 и 08-2-0405, соответственно, в 2015 году для предпосевной обработки семян сои и подсолнечника [4, 5, 6].

Применение биопрепаратов на основе грибов *Trichoderma* будет способствовать получению экологически чистой продукции бобовых культур.

Библиография:

1. Пивень, В.Т. *Защита сои.* / В.Т. Пивень, В.Ф. Баранов, А.И. Дряхлов В: Защита и карантин растений, 2007, № 3, с. 78-99.

2. *Методы определения болезней и вредителей сельскохозяйственных растений.* / пер. с нем. К.В. Попковой, В.А. Шмыгли. Москва, 1987. 224 с.
3. Егоров, Н.С. *Основы учения об антибиотиках.* / Н.С. Егоров. Москва: Наука, МГУ, 2004. 528с.
4. Щербакова, Т. *Биотехнология производства и применения биопрепарата на основе гриба *Trichoderma virens* для защиты сои от корневых гнилей.* / Щербакова Татьяна: Автореф. дисс...доктора биол. наук. Кишинэу, 2013. 30 с.
5. Щербакова, Т.И. *Повышение урожайности подсолнечника при использовании биопрепаратов.* / Т.И. Щербакова, Б.В. Пынзару. В: Сборник трудов Межд. научн. конф. «Защита растений и экологическая устойчивость агробиоценозов». Алматы, 2014, с. 374-376.
6. *Registrul de Stat al produselor de uz fitosanitar și al fertilizanților, permise pentru utilizare în Republica Moldova.* Chișinău, 2016, p. 262.