

УДК 579.24 : 582.28 : 536.5 : 57.084.1

## ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА РОСТ ГРИБА – АНТАГОНИСТА *TRICHODERMA VIRENS*

ТАТЬЯНА ЩЕРБАКОВА, И. ПОПУШОЙ

Институт защиты растений и экологического земледелия АНМ

**Abstract:** The influence of various temperatures on growth of fungus *T.virens* 3X has been studied. The optimum temperature for fungi growth is equal to +25-30°C, minimum possible temperature for spores' formation is equal to +14-20°C, the greatest possible temperature is equal to +35°C.

**Keywords:** Growth rate, Optimum temperature, Thermal factor, *Trichoderma virens*.

### ВВЕДЕНИЕ

Гриб *Trichoderma virens* Miller, Giddens and Foster (*Gliocladium virens*) – один из наиболее активных продуцентов биопрепаратов, применяемых в защите сельскохозяйственных растений от фитопатогенов. На его основе в США изготовлены две формы препарата “*GlioGard{TM}*” и “*SoilGard{TM}*” для защиты всходов от патогенов, вызывающих болезни увядания овощных и декоративных культур (R. Lumsden, J. Walter et al., 1996). В Германии разработан биопрепарат *Soilgard* для снижения распространения заболеваний корневых систем гороха и огурца в условиях теплицы (E. Koch, 1998). Этот биологический агент рекомендован для подавления возбудителей болезней ягод, побегов и листьев на винограднике (А.Талаш, Е. Юрченко и др., 1997), для предотвращения гибели сеянцев хвойных пород (Е. Якименко, И. Городницкая, 2000). Гриб *T. virens* используют против фитотрозы томатов (H. Etebarian et al., 2000), корневых гнилей и фузариозного увядания хлопчатника (C. Howell, 2006), фузариозного вилта нута (S. Dubey, M. Suresh, 2007) и других болезней растений.

Из множества экологических факторов, влияющих на жизнедеятельность и цикл развития гриба, важную роль играет температура. Чаще всего температурный режим обуславливает продолжительность инкубационного периода, интенсивность спорообразования, токсинообразование, количество синтезируемых ферментов (З. Беккер, 1988), а также способность проявлять антагонистические свойства. Для культивирования большинства мицелиальных грибов оптимальная температура роста составляет 25-28°C, а отклонение температуры развития в ту или другую сторону обычно вызывает замедление роста микроорганизма (Н. Егоров, 2004). Для производства биопрепаратов отобранный штамм микроорганизма-антагониста должен обладать комплексом признаков: хорошей приживаемостью и адаптацией к условиям ризосферы растений и тех экосистем,

в которых будет использоваться. Для открытых агроценозов штамм должен обладать широким диапазоном оптимальных параметров для своего развития - pH, температуры и влажности (А. Лихачев, В. Садыкова, 2007). Поскольку местный штамм *T. virens* 3X используется как средство защиты растений, при его применении необходимо знание температурного режима.

Цель исследований – выявить действие температуры на рост гриба-антагониста *T. virens* 3X, определить температурные параметры спорообразования по сравнению с вегетативным ростом.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Влияние температурного фактора на рост и спороношение гриба *T. virens* 3X изучали при температурах -8, 0, 5, 7, 8-9, 10, 14-16, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50°C. Гриб культивировали на плотной картофельно-сахарозной питательной среде в чашках Петри. Посев производили агаровым блоком диаметром 6 мм в центре чашки (Н. Егоров, 1995). Повторность опыта четырехкратная. Поскольку основным показателем развития гриба является скорость роста, ежедневно измеряли диаметр выросших колоний (в мм). При изучении влияния пониженных температур культуру выдерживали в морозильной камере при -8°C в течение 1-5 суток, затем производили посев на питательную среду и помещали в термостат с оптимальной для роста гриба температурой 26-27°C. Для определения влияния повышенных температур культуру выдерживали в течение 6 часов в сушильном шкафу, через каждые 3 часа проверяли жизнеспособность, засевая свежие среды с дальнейшим культивированием при оптимальной температуре (Л. Буймистру, 1980).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Результаты изучения влияния температуры на рост гриба *T. virens* 3X представлены в таблице 1, из которой следует, что этот штамм при температуре +7 и +40°C не вегетирует. При 8-9°C рост гриба начинался на 7-й день после посева и колонии достигали диаметра 24 мм на 15-е сутки, образования конидий не происходило. При температуре 10°C начало роста гриба отмечали на 4-е сутки, на 15-й день диаметр колонии составлял 37 мм, спороношения не наблюдали. При 14-16°C начало роста было отмечено на третьи сутки, начало спороношения на десятые, а массовое образование конидий, придающих культуре темно-зеленую окраску, происходило на 15-16-й день (мицелий у гриба *T. virens* белый). При температуре 20°C уже на вторые сутки диаметр колонии достигал более 13 мм, начало спороношения зафиксировали на пятые, а полное заселение чашки и интенсивное спороношение происходило через 10 суток. Скорость роста мицелия становилась максимальной при 25-30°C, в течение четырех-пяти дней вся поверхность среды в чашках Петри зарастала колонией гриба, начало спороношения - на 2-3-е сутки, а на шестые спороношение составило практически 100%. Температура 35°C замедляла рост гриба. На 15-й день диаметр колонии составлял 73,5 мм, начало спороношения на пятые сутки, однако интенсивности образования конидий в дальнейшем не наблюдалось. При 37°C на четвертые сутки были обнаружены лишь следы роста - легкое опушение посевного агарового блока; в последующие дни роста гриба не наблюдали (табл.1). Итак, проведенные исследования показали, что температурный оптимум для роста гриба *T. virens* 3X составляет 25-30°C, так как при температуре 20°C наблюдается недостаточная скорость роста, а при 35°C рост гриба заметно замедляется. Наблюдения за ростом изучаемого антагониста при +7 и +40°C показали, что *T. virens* 3X при этой температуре не вегетирует.

В данной работе представлены результаты изучения температурных параметров жизнеспособности аборигенного штамма из рода *Trichoderma*. По литературным данным штаммы этого многочисленного рода, выделенные из более холодных мест обитания, проявляли способность к росту при более низкой температуре +5-8°C, диаметр их колоний составлял от 13 до 24 мм, а максимальная скорость роста наблюдались при 28°C (С. Прудникова и др., 2002), что согласуется с данными наших исследований.

Известно, что температура значительно влияет на антагонистическую активность грибов. Так, гриб *T. harzianum* при температуре 20°C активно подавлял рост колоний *Microdochium nivale*, *Fusarium equiseti* и *Fusarium culmorum*. Понижение температуры до 2°C резко снижало активность антагониста, но не ликвидировало ее полностью (К. Hudec, 2000). Поэтому, в каждом конкретном случае необходимо проверять отношение отобранных штаммов грибов-антагонистов к температуре.

Таблица 1

Влияние температуры на рост гриба *T. vires* 3X, диаметр колоний (мм)

День учета	Температура, °C									
	7	8-9	10	14-16	20	25	30	35	37	40
2	-	-	-	-	13,7±0,7	15,2±0,3	17,5±0,3	14,7±0,3	-	-
3	-	-	-	начало роста	29,0±0,7	43,2±0,6 нач. спороношения	43,5±0,6 нач. спороношения	27,0±0,7	-	-
4	-	-	9,5±0,5	14,2±0,2	47,2±2,2	80,0±0,8	72,5±1,2	37,2±0,7 нач. спороношения	следы роста	-
5	-	-	14,0±0,4	21,2±0,5	68,7±2,7 нач. спороношения	90,0±0	90,0±0	45,2±0,7	-/-	-
6	-	-	18,0±0,5	24,7±0,3	81,5±2,7	спороношение 100%	спороношение 100%	56,5±1,3	-/-	-
7	-	начало роста	21,7±0,5	33,0±0,4	88,7±1,3			63,5±1,5	-/-	-
10	-	12,0±0,8	27,5±0,7	60,2±0,3 нач. спороношения	спороношение 100%			69,3±1,7	-/-	-
15	-	24,0±0,6 спороношения нет	37,0±1,1 спороношения нет	90,0±0 спороношение 100%				73,5±0,5 слабое спороношение	-/-	-

Результаты изучения влияния экстремальных температурных факторов на рост гриба *T. vires* 3X представлены в таблице 2, из которой видно, что воздействие на культуру пониженной температуры - 8°C в течение 1-5 суток с последующим пересевом и культивированием в оптимальных условиях не сказывается отрицательно на ее морфолого-культуральных признаках. Напротив, как видно на рисунке 1, после суточного воздействия пониженной температуры рост гриба интенсивный, мицелий высокий, плотный, ватообразный, по параметрам превышает контрольный вариант.

Таблица 2

Влияние температурных факторов на рост гриба *T. vires* 3X с последующим культивированием при 25-27°C

День учета	Диаметр колоний, мм							
	Контроль, культура без стресса	-8°C 5 суток	+40°C 3 часа	+40°C 6 часов	+45°C 3 часа	+45°C 6 часов	+50°C 3 часа	+50°C 6 часов
2	15,2±0,3	11,2±0,5	15,0±0,4	12,7±0,3	-	-	-	-
3	47,0±0,8 нач. спороношения	39,0±0,4 нач. спороношения	48,7±0,6 нач. спороношения	44,2±0,5 нач. спороношения	20,7±0,5	11,5±0,9	-	-
4	86,5±2,2	70,7±0,5	85,0±0	83,0±0,4	52,0±0,4 нач. спороношения	41,2±0,8	21,7±0,6	-
5	90,0±0	88,7±1,3	90,0±0	90,0±0	88,7±1,2	67,7±5,0 нач. спороношения	48,7±1,6 нач. спороношения	-
6	спороношение 100%	спороношение 100%	спороношение 100%	спороношение 100%	90,0±0	86,5±2,0	72,2±3,4	-
7					спороношение 100%	90,0±0	85,5±1,3	-
8						спороношение 100%	спороношение 100%	-
9								-

После пребывания в морозильной камере в течение пяти суток вновь выросшая культура сравнима с контролем: (рис.1) - начало спороношения на третьи сутки, однако, скорость роста снижена (табл. 2).

После экспозиции мицелия в сушильном шкафу при температуре +40°C от 3-х до 6-ти часов с последующим пересевом и культивированием в оптимальных условиях, как видно из таблицы 2 и рисунка 2, культура мало отличается от контрольного варианта по скорости роста, началу и интенсивности спорообразования. Воздействие температуры +45°C в течение 3-6 часов снижало скорость роста: начало развития гриба отмечено на третьи сутки, начало спороношения на 4-5-е, интенсивности накопления биомассы не наблюдали. 3-х часовая экспозиция гриба при +50°C снижала жизнеспособность культуры: начало роста отмечено на 4-е сутки, мицелий развит слабо, рост происходит концентрическими кругами, цвет культуры светло-зеленый, что свидетельствует о слабости конидиеобразования (рис. 2). Высокая температура +50°C в течение 6 часов является губительной для гриба *T. vires* 3X.



Рис. 1. Выросшие культуры гриба *T. vires* 3X после воздействия пониженных температур: 1) контроль, 2) -8°C 1 сутки, 3) -8°C 5 суток



Рис. 2. Выросшие культуры гриба *T. vires* 3X после воздействия повышенных температур: 1) контроль, 2) +40°C 6 часов, 3) +45°C 3 часа, 4) +45°C 6 часов, 5) +50°C 3 часа

Температурные параметры для роста гриба-антагониста *T. vires* 3X представляют практический интерес, так как его используют в защите сельскохозяйственных культур от ущерба наносимого фитопатогенными грибами, которые имеют свои температурные оптимумы (*Sclerotinia sclerotiorum*, *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium sp.* и др.).

## ВЫВОДЫ

В результате экспериментов было установлено:

- при температуре +7°C и +40°C гриб *T. vires* 3X не вегетирует;
- при температуре +8-10°C гриб *T. vires* 3X растет, но спороношения не происходит;
- температура +25+30°C является оптимальной для роста гриба *T. vires* 3X, скорость роста максимальная, начало спороношения на 2-3-и сутки;
- минимальная температура для спороношения гриба +14-20°C, максимальная +35°C;
- влияние повышенных и пониженных температур не вызывает гибели гриба;
- воздействие высокой температуры +50°C в течение 6 часов является губительным для гриба *T. vires* 3X

Проведенные исследования показали, что в местном регионе температурные параметры воздуха и почвы как важные экологические факторы системы «патоген-растение-антагонист», благоприятны для использования гриба - антагониста *T. vires* 3X в качестве биологического средства защиты растений.

## БИБЛИОГРАФИЯ

- Беккер, З. Э. *Физиология и биохимия грибов*. Москва: МГУ, 1988, 230 с.
- Буймистру, Л. Биологический метод борьбы с вертициллезным увяданием баклажанов в Молдавии. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук. Кишинев, 1980, 16 с.

3. Егоров, Н. С. *Руководство к практическим занятиям по микробиологии*. Москва: МГУ, 1995, 224 с.
4. Егоров, Н. С. *Основы учения об антибиотиках*. Москва: «Наука», МГУ, 2004, 528 с.
5. Лихачев, А., Садыкова, В. Установление комплекса признаков - тестов по отбору антагонистов для биоконтроля фитопатогенов (на примере грибов рода *Trichoderma*). *Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты*. вып. 16, 2007, с.33-47.
6. Прудникова, С., Громовых, Т., Шилкина, Е. и др. Биологические свойства сибирских штаммов рода *Trichoderma*. *Тезисы докладов первого съезда микологов «Современная микология в России»*. Москва, 2002, с.240.
7. Талаш, А., Юрченко, Е., Ярошенко, В. и др. Биометод на виноградниках Краснодарского края. *Защита и карантин растений*. № 11, 1997, с.28.
8. Якименко, Е., Городницкая, И. Влияние грибов рода *Trichoderma* на почвенные микромицеты, вызывающие инфекционное полегание сеянцев хвойных пород в лесных питомниках Сибири. *Микробиология*. т.69, 2000, с.850-854.
9. Dubey, S., Suresh, M., Birendra, S. Evaluation of *Trichoderma* species against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* for integrated management of chickpea wilt. *Biological Control*. vol. 40, 2007, p. 118-127.
10. Etebarian, H., Scott, E., Wicks, T., *Trichoderma harzianum* T39 and *T. virens* DAR 74290 as potential biological control agents for *Phytophthora erythroseptica*. *European Journal of Plant Pathology*. vol. 106, 2000, p. 329-337.
11. Howell, C. Understanding the Mechanisms Employed by *Trichoderma virens* to Effect Biological Control of Cotton Diseases. *Phytopathology*. vol. 96, 2006, p.178-180.
12. Hudec, K. Influence of temperature on *Trichoderma harzianum* antagonistic activity against *Microdochium nivale*, *Fusarium culmorum* and *F. equiseti* under “in vitro” conditions. *Acta fytotechn. et zootechn.* 3, № 4, 2000, p.98-100.
13. Koch, E. Gewachshausversuche zur Bekämpfung bodenburtiger Pflanzkrankheiten mit kommerziellen Antagonisten-Preparaten. *Mitt. Biol. Bundesanst. Land- und Forstwirt. Berlin-Dahlem*. № 357, 1998, p.345-346.
14. Lumsden, R., Walter, J., Baker, C. Development of *Gliocladium virens* for damping-off disease control. *Can. J. Plant Pathol.* vol. 18, 1996, p. 463-468.

Data prezentării articolului – **18.03.2010**