

4-бөлім  
**МИКРОБИОЛОГИЯ**

---

Раздел 4  
**МИКРОБИОЛОГИЯ**

---

Section 4  
**MICROBIOLOGY**

Бекмаханова Н.Е.,  
Момбекова Г.А.,  
Шемшура О.Н.,  
Сейтбатталова А.И.

**Антагонизм грибов рода  
*Trichoderma* в отношении  
возбудителей бобовых  
и кормовых культур**

Проведен отбор штаммов грибов рода *Trichoderma* с целью выявления антагонистов в отношении патогенов, поражающих бобовые (нут, горох, бобы) и кормовые (люцерна) культуры, произрастающие в Алматинской области. Полученные результаты выявили штаммы антагонистов (*Trichoderma viride* 22, *Trichoderma album* 23, *Trichoderma asperellum* 175, *Trichoderma asperellum* 1М), обладающие высокой антагонистической активностью и скоростью роста. Диаметр зоны подавления роста патогенов *Fusarium solani*, *Fusarium sporotrichiella* var. *poae* и *Alternaria compacta* составил от 28 до 39 мм. При этом грибы *Trichoderma* слабее действовали на *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Alternaria tenuis* Nees., диаметры зоны подавления составляли от 22 до 30 мм. Также установлено, что исследуемые грибы активно угнетают возбудителя шоколадной пятнистости бобов – *Botrytis fabae* Sard. и гороха *Sclerotinia sclerotiorum*.

**Ключевые слова:** *Trichoderma*, бобовые культуры, кормовые культуры, *Fusarium solani*, *Fusarium sporotrichiella* var. *Poae*, *Alternaria compacta*.

Bekmahanova N.E.,  
Mombekova G.A.,  
Shemshura O.N.,  
Sejtbatталova A.I.

**Antagonism of fungi of the genus  
*Trichoderma* against pathogens  
legumes and forage crops**

An selection of strains of *Trichoderma* fungi to identify antagonists of pathogens that infect beans (chickpeas, peas, beans) and forage (alfalfa) cultures grown in Almaty oblast. The results obtained revealed strains antagonists (*Trichoderma viride* 22, 23 *album Trichoderma*, *Trichoderma asperellum* 175, *Trichoderma asperellum* 1M), possess high antagonistic activity and growth rate. The diameter of the zones of inhibition of growth of pathogens *Fusarium solani*, *Fusarium sporotrichiella* var. *poae* and *Alternaria compacta* ranged from 28 to 39 mm. But fungi *Trichoderma* less acted on *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Alternaria tenuis* Nees., The diameters of the zones of inhibition ranged from 22 to 30 mm. During the experiment, it was found that the investigated fungi actively inhibit pathogen bean chocolate spot – *Botrytis fabae* Sard. and peas *Sclerotinia sclerotiorum*.

**Key words:** *Trichoderma*, legumes, forage crops, *Fusarium solani*, *Fusarium sporotrichiella* var. *Poae*, *Alternaria compacta*.

Бекмаханова Н.Е.,  
Момбекова Г.А.,  
Шемшура О.Н.,  
Сейтбатталова А.И.

**Бұршақты және жем  
дақылдарының  
қоздырғыштарына *Trichoderma*  
туысына жататын  
саңырауқұлақтардың  
антагонизмы**

Алматы облысында өсетін бұршақты (ноқат, асбұршақ, бұршақ) және мал азығы (жоңышқа) дақылдарды зақымдайтын патогендердің антагонистерін анықтау мақсатында *Trichoderma* саңырауқұлақтар штамдарын іріктеп алу жүргізілді. Алынған нәтижелер жоғары антагонистік белсенділігіне және өсу жылдамдығына ие штамдар антагонистер (*Trichoderma viride* 22, *Trichoderma album* 23, *Trichoderma asperellum* 175, *Trichoderma asperellum* 1М) айқындалды. *Fusarium solani*, *Fusarium sporotrichiella* var. *poae* және *Alternaria compacta* патогендерінің өсуінің төмендеуінің зоналар диаметрі 28-ден 39 см-ге дейін болды. Бірақ *Trichoderma* саңырауқұлағы *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Alternaria tenuis* Nees. Саңырауқұлақтарына нашар әсер етті, өсуінің төмендеуінің зоналар диаметрі 22-ден 30 см-ге дейін болды. Тәжірибе жүргізу уақытысында зерттелген саңырауқұлақтар *Botrytis fabae* Sard. – шоколадты бұршақ теңбілі және ас бұршақтың *Sclerotinia sclerotiorum* ауру қоздырғыштары белсенді жояды.

**Түйін сөздер:** *Trichoderma*, бұршақты дақылдар, жоңышқа дақылдар, *Fusarium solani*, *Fusarium sporotrichiella* var. *Poae*, *Alternaria compacta*.

**АНТАГОНИЗМ ГРИБОВ  
РОДА *TRICHODERMA*  
В ОТНОШЕНИИ  
ВОЗБУДИТЕЛЕЙ  
БОБОВЫХ  
И КОРМОВЫХ КУЛЬТУР**

**Введение**

В настоящее время в борьбе с фитопатогенными микроорганизмами применяются грибы рода *Trichoderma* и биопрепараты, созданные на их основе [1, 2]. Проявление антагонизма этих грибов выражается в виде микопаразитизма, антибиоза, конкуренции за питательные вещества и за пространство, устойчивости к стрессам, инактивации ферментов патогенов и др. [3, 4]. Грибы рода *Trichoderma* продуцируют различные антибиотики, обладающие высокой физиологической активностью, угнетают или полностью подавляют жизненные процессы ряда фитопатогенных грибов и бактерий, это и позволяет достаточно быстро вытеснять из субстратов патогенную микрофлору [4]. Эти грибы хорошо приживаются в ризосфере или на корнях растений, контролируют растения, возбудителей болезней, колонизируют фитопатогены (зона нарастания) и ингибируют их развитие (зона отсутствия роста) [5-9].

Однако, потенциальные возможности использования представителей вида микромицетов *Trichoderma asperellum* в биологическом контроле возбудителей инфекций растений изучены недостаточно. Род *Trichoderma* сейчас в стадии открытия для человечества. Численность и биоразнообразие, роль и взаимодействие видов *Trichoderma* в окружающей среде только теперь можно оценить в полной мере. С открытием новых экологических ниш и описанием новых видов в неизученных географических регионах еще много новых видов.

Будут найдены и изучены процессы жизнедеятельности этого «захватывающего» рода, и использован их потенциал в биотехнологии будущего [10-14].

Для многих зернобобовых культур, произрастающих в Казахстане, представляют особую опасность патогенные грибы рода *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium sambucinum*, *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum* и др., вызывающие корневые гнили и передающиеся через семена и почву. Недобор урожая зернобобовых культур при поражении корневой гнилью достигает 16-59%, в растениях снижается общее содержание сахаров, количество хлорофилла и

аскорбиновой кислоты, содержание белка в зерне уменьшается на 3-5% [15].

Целью исследования настоящей работы явилось изучение антагонистической активности штаммов грибов рода *Trichoderma viride* 22, *Trichoderma album* 23, *Trichoderma asperellum* 175, *Trichoderma asperellum* 1M по отношению к патогенным грибам *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium sporotrichiella* var. *poae*, *Alternaria compacta*, *Alternaria alternata*, *Alternaria tenuis* Nees., *Botrytis cinerea*, *Botrytis fabae* Sard., *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) Bary.

### Материалы и методы исследований

Патогенные грибы рода *Fusarium*, *Alternaria*, *Botrytis* и *Sclerotinia*, поражающие семена и проростки были выделены из гороха сортов «Амброзия» и «Орегон», нута сорта «Икарда», люцерны сорта «Кокорай». В лабораторных условиях эти патогены поражали проростки от 35 до 100%. Грибы антагонисты *Trichoderma* 22 и 23 выделены из ризосферы сои и люцерны, а *Trichoderma* 1M и 175 из ризосферы нута и сахарной свеклы.

Зараженность семян определяли с помощью микологического анализа, а патогенность грибов определяли после искусственного заражения семян в лабораторных условиях. Для выделения патогенов в чистую культуру использовали методику предложенную Н.А. Наумовой [13]. Видовую принадлежность патогенов определяли после микроскопирования, руководствуясь соответствующими определителями [16-17]. Уровень достоверности данных оценивали по величине нормированного отклонения (коэффициент Стьюдента), равного частному между средним значением (M) и его ошибкой (m) для

уровня значимости 0,05 и 0,01 (доверительная вероятность 0,95-0,99) [18-19].

Антагонистические свойства грибов рода *Trichoderma* (№22, 23, 1M, 175) проверяли в отношении грибов *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium sporotrichiella* var. *poae*, *Alternaria compacta*, *Alternaria alternata*, *Alternaria tenuis* Nees., *Botrytis cinerea*, *Botrytis fabae* Sard., *Sclerotinia sclerotiorum* вызывающих гнили бобовых и кормовых культур, изучали методом блоков на твердой картофельно-глюкозной питательной среде. опыты проводились в 3-х повторностях. Измерение измеряли зоны подавления роста патогенов определяли линейным методом (в мм) с обратной стороны чашки Петри через 5-суток.

Для описания типов взаимоотношений между грибами рода *Trichoderma* и фитопатогенами родов *Fusarium*, *Alternaria*, *Botrytis* и *Sclerotinia*, использовали шкалу Джонсона и Карла, в модификации и дополнении Ф.К. Алимовой [2].

### Результаты и их обсуждение

Представленные исследования показали, что штаммы грибов рода *Trichoderma* в той или иной степени подавляет рост выделенных патогенов.

Антагонистическое действие грибов рода *Trichoderma* на патогены, вызывающие поражение семян и корневые гнили у бобовых и кормовых культур представлены в таблицах 1, 2, и на рисунке 1.

Было установлено, что штаммы *Trichoderma viride* 22 и *Trichoderma album* 23 обладали максимальной активностью в отношении *Fusarium solani* и *Alternaria tenuis* Nees. по шкале Джонсона и Карла имели (5 баллов). Зоны подавления роста этих патогенов составили 43-45 мм.

Таблица 1 – Индекс антагонизма грибов рода *Trichoderma*

Исследуемый штамм	Индекс антагонизма, балл								
	<i>F. solani</i>	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i>	<i>A. tenuis</i> Nees	<i>A. compacta</i>	<i>A. alternata</i>	<i>B. fabae</i>	<i>B. cinerea</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>S. sclerotiorum</i>
<i>T. viride</i> 22	5	2	5	2	2	3	3	1	2
<i>T. album</i> 23	5	3	5	4	2	4	4	2	4
<i>T. asperellum</i> 175	2	4	4	4	3	2	3	2	1
<i>T. asperellum</i> 1M	2	4	5	4	3	3	3	2	1

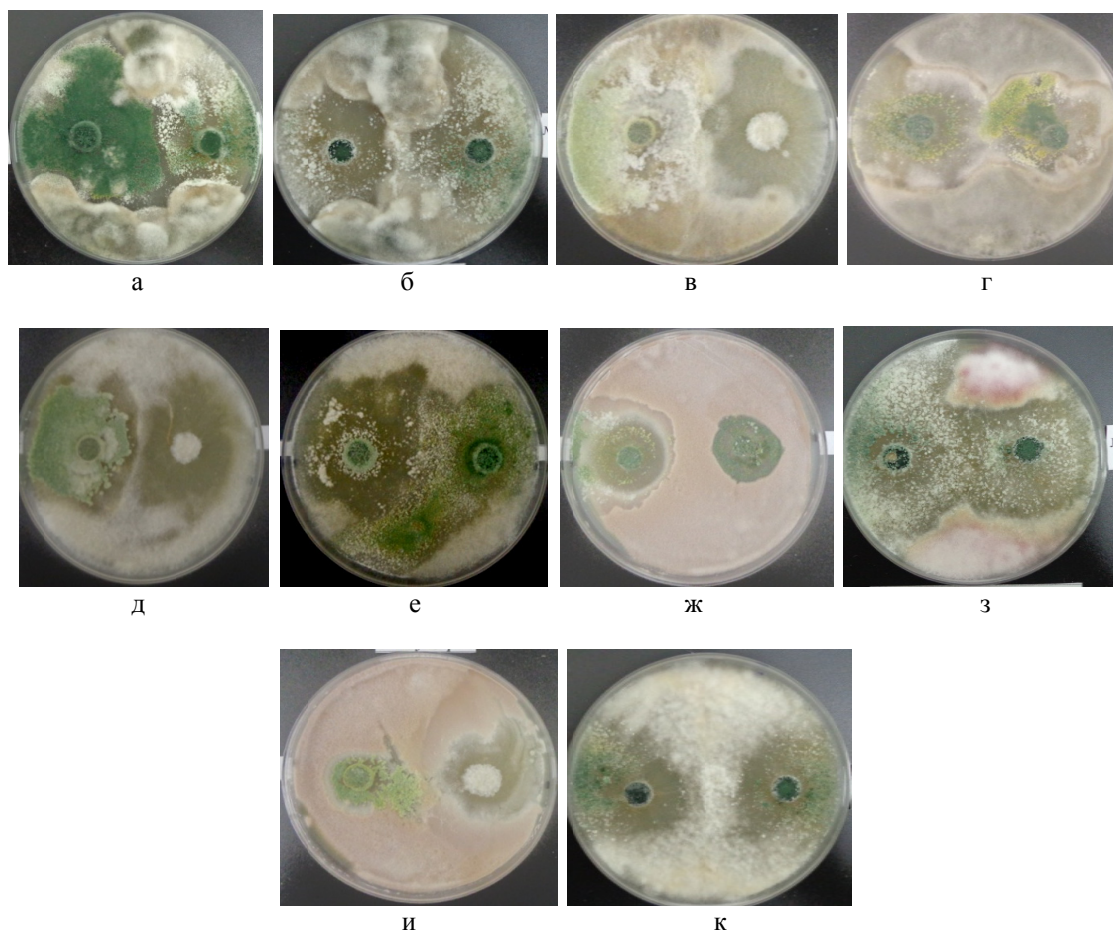
Механизм подавления заключался в том, что при контакте антагонисты продолжали расти с неизменной скоростью поверх колонии подавляемого организма. Штамм *Trichoderma asperellum* 175 и *Trichoderma asperellum* 1M одинаково действовали на патоген *Fusarium sporotrichiella* var. *poae* и *Alternaria compacta*, *Alternaria alternata*. Индекс по шкале Джонсона и Карла составлял 4 балла, т.е. происходило подавление одного организма при контакте с другим штаммом, антагонист обрастал колонию подавляемого организма, и одновременно образовывал стерильную зону подавления роста патогена (28-39 мм).

Для *Trichoderma asperellum* 1M и *Trichoderma album* 23 действие на *Botrytis fabae* Sard., *Botrytis cinerea* и *Fusarium oxysporum* (зона 37 мм) индекс антагонизма составил 2 и 3 балла. Гиперпаразитическая активность при этом не

наблюдалось. *Trichoderma* действует на патогены продуцируемыми антибиотиками (зоны от 25 до 37 мм).

Гриб *Botrytis fabae* Sard., является самым распространенным в мире патогеном, вызывающим пятнистость бобов. Именно этот штамм вызывал развитие заболевания шоколадной пятнистости бобов или «ботритиоз» и снижал урожай более чем на 2/3 [20], а в оптимальные для развития и размножения грибов в годы потери урожая могут достигать до 80% [21].

Грибы рода *Trichoderma viride* 22 и *Trichoderma album* 23 в отношении *Sclerotinia sclerotiorum* действовали не только своими антибиотиками, они частично нарастали на патоген, осуществляя его колонизацию, в том случае, если антагонисты подсеивались через двое суток к патогену. Патоген рос медленно, антагонист перегонял его в росте.



а, б, в, г – штаммы грибов рода *Trichoderma* T175, T22, T23, 1M против грибов рода *Alternaria*, д, е, ж, з – штаммы грибов рода *Trichoderma* T175, T22, T23, 1M против грибов рода *Fusarium*, и – штаммы грибов рода *Trichoderma* T22, T23 против грибов рода *Botrytis*, к – штаммы грибов рода *Trichoderma* T22, T23 против грибов рода *Sclerotinia*.

**Рисунок 1** – Антагонистическая активность грибов рода *Trichoderma* против патогенных грибов поражающих горох, нут, люцерну

Индекс антагонизма составил 4 и 2 соответственно. В редких случаях происходило образование склероциев, на которых поселялся антагонист. При пересеве склероциев на свежую среду, оболочки у них разрушались, рост *Sclerotinia sclerotiorum* от-

сутствовал, чашки Петри полностью заселялись грибами *Trichoderma viride* 22 и *Trichoderma album* 23. В контроле в чистой культуре происходило нормальное развитие патогена. Образование склероциев происходило на 6-7 сутки.

**Таблица 2** – Антагонистическая активность грибов рода *Trichoderma* против бобовых и кормовых культур, выделенных в 2015 году в Алматинской области

Антагонисты грибов, рода <i>Trichoderma</i>	Фитопатогены								
	<i>F. oxysporum</i>	<i>A. tenuis</i> Nees	<i>B. fabae</i>	<i>F. sporotrichiella</i> var <i>poae</i> .	<i>A. compacta</i>	<i>B. cinerea</i>	<i>S. sclerotiorum</i>	<i>F. solani</i>	<i>A. alternata</i>
	Источник выделения								
	из семян гороха	из семян нута	из семян нута	из семян нута	из семян гороха	из семян люцерны	из семян люцерны	из ризосфер гороха	из ризосфер нута
Размер зоны, подавление роста в мм									
<i>T. viride</i> 22	16±0,76	38±0,61	30±1,2	22±0,62	24±0,63	24±0,97	20±0,82	43±1,03	22±0,71
<i>T. album</i> 23	27±0,78	40±0,71	33±1,4	28±0,71	42±1,3	35±0,82	21±0,46	45±1,5	27±0,63
<i>T. asperellum</i> 175	26±1,1	30±0,92	25±0,93	34±0,58	39±0,74	28±0,13	17±0,87	20±0,42	29±0,31
<i>T. asperellum</i> 1M	25±0,9	42±1,1	37±0,82	39±0,49	43±1,9	26±0,45	13±1,0	25±0,36	30±0,36

Таким образом, проведенные исследования показали перспективность штаммов *Trichoderma* №22, 23, 1M и 175, как основы для создания биопрепаратов. Поскольку разрешенных к применению препаратов биологического происхождения для защиты бобовых и кормовых культур от грибных патогенов в Казахстане нет, поэтому вопрос о разработке новых эффективных средств защиты гороха, нута и люцерны от корневых

гнилей на основе активных и экологически безопасных микроскопических грибов, является актуальным для Республики Казахстан.

Не вызывает сомнения, что биологически активные природные соединения грибов рода *Trichoderma* будут играть все возрастающую роль в обеспечении производства экологически и терапевтически безопасных и эффективных для контроля фитопатогенных грибов, препаратов.

### Литература

- 1 Александрова А.В., Великанов Л.Л. Влияние гриба *Trichoderma harzianum* на почвенные микромицеты // Микология и фитопатология. – 2000. – Т. 34. – Вып. 3. – С. 68-77.
- 2 Алимова Ф.К. Некоторые вопросы применения препаратов на основе грибов рода *Trichoderma* в сельском хозяйстве // АГРО XXI научно-практический журнал. – 2006. – №4-6. – С. 18-21.
- 3 Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. – М.: Наука, МГУ. – 2004. – 528 с.
- 4 Винникова О.И., Жалнива Е.В. Антибиотическая активность грибов рода *Trichoderma* // Актуальные проблемы сохранения устойчивости живых систем. – Белгород, 2004. – С. 32-33.
- 5 Лихачев А.Н., Садыкова В.С. Установление комплекса признаков-тестов по отбору антагонистов для биоконтроля фитопатогенов (на примере грибов рода *Trichoderma*) // Нетрадиционные природные ресурсы. Инновационные технологии и продукты. – 2007. Вып. 16. – С. 33-47.
- 6 Dubey S., Suresh M., Birendra S. Evolution of *Trichoderma* species against *Fusarium oxysporum*, b. sp. *ciceris* for integrated management of chickpea wilt // Biological control. – Vol. 40. – 2007. – P. 8-127.
- 7 Щербакова Т., Попушой И., Одобеску В. Антагонистическая активность гриба рода *Trichoderma virens* по отношению к патогенам *Sclerotinia sclerotiorum* и *Fusarium* sp. // Микология и фитопатология. – 2000. – Т.34. – Вып. 3. – С. 68-77.
- 8 Benitez T., Rincon A.M., Limon M.C., Codon A.C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains // International Microbiology. – 2004. – №7. – P. 249-260.

- 9 Howel C. Understanding of mechanisms employed by *Trichoderma virens* to effect biological control of cotton diseases // *Phytopathology*. – 2006. – Vol.96. – P. 178-180.
- 10 Аспите А.Ф. Использование триходермина для защиты растений от фитопатогенных микромицетов / Аспите А.Ф., Швинка Ю.Э., Стрикаускас С.В. // *Вестник сельскохозяйственных наук*. – 1981. – №9. – С. 114-118.
- 11 Chef I. *Trichoderma* application, mode of action and potential as a biocontrol agent of soilborne plant pathogenic fungi / Chef I. // *In innovative Approaches to plant disease control*. – 1987. – P. 137-160.
- 12 Reino J.L. and et. al. Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma* // *Phytochem. Rev.* – 2008. – Vol.7. – P. 89-123.
- 13 Наумова И.А. Анализ семян на грибную и бактериальную инфекцию. – Л.: Колос, 1970. – 204 с.
- 14 Билай В.И. Фузариоз. – Киев: Наукова думка, 1977. – 442 с.
- 15 Куркина Ю.И. Проявление альтернариоза на кормовых бобах и белом люпине // *Защита и карантин растений*. – 2012. – №6. – С. 43-45.
- 16 Пидопличко Н.М. Грибы – паразиты культурных растений. Определитель Т. 2. – Грибы несовершенные. Изд-во «Наукова думка», Киев. – 1977. – 298 с.
- 17 Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных грибов и условно-патогенных грибов. – М.: Мир. – 2001. – 468 с.
- 18 Удольская Н.А. Ведение в биометрию. Алма-ата: Наука, 1976. – 72с.
- 19 Резник К.А. Элементы математической обработки результатов измерений и технологических анализов. – М.: Агрпромиздат. – 1986. – 46 с.
- 20 Hanounik S.B. Influence of ronilan on severity of chocolate spot and yield in faba bean // *FABIS newsl.* – 1981. – №3. – P. 50-51.
- 21 Bouhassan A., Sadiki M., Tivoli B. Evolution of collection of faba bean (*vicia faba* L.) genotypes originating from the Maghreb for resistance to chocolate spot (*Botrytis fabae*) by assessment in the field and laboratory // *Euphytica*. – 2004. – №135. – P. 55-62.

#### References

- 1 Aleksandrova A.V., Velikanov L.L. Vliyanie griba *Trichoderma harzianum* na pochvennye mikromicety // *Mikologija i fitopatologija*. – 2000. – Т.34. – Вып. 3. – С. 68-77.
- 2 Alimova F.K. Nekotrye voprosy primeneniya preparatov na osnove gribov roda *Trichoderma* v sel'skom hozjajstve // *AGRO XXI nauchno-prakticheskij zhurnal*. – 2006. – №4-6. – С. 18-21.
- 3 Egorov N.S. Osnovy uchenija ob antibiotikah. – М.: Nauka., MGU. – 2004. – 528 s.
- 4 Vinnikova O.I., Zhalniva E.V. Antibioticheskaja aktivnost' gribov roda *Trichoderma* // *Aktual'nye problemy sohraneniya ustojchivosti zhivyh sistem*. – Belgorod, 2004. – С. 32-33.
- 5 Lihachev A.N., Sadykova V.S. Ustanovlenie kompleksa priznakov-testov po otboru antagonistov dlja biokontrolja fitopatogenov (na primere gribov roda *Trichoderma*) // *Netradicionnye prirodnye resursy. Innovacionnye tehnologii i produkty*. – 2007. Вып. 16. – С. 33-47.
- 6 Dubey S., Suresh M., Birendra S. Evolution of *Trichoderma* species against *Fusarium oxysporum*, b. sp. *ciceris* for integrated management of chickpea wiet // *Biological control*. – Vol. 40. – 2007. – P. 8-127.
- 7 Shherbakova T., Popushoj I., Odobesku V. Antagonisticheskaja aktivnost' griba roda *Trichoderma virens* po otnosheniju k patogenam *Sclerotinia sclerotiorum* i *Fusarium* sp. // *Mikologija i fitopatologija*. – 2000. – Т.34. – Вып. 3. – С. 68-77.
- 8 Benitez T., Rincon A.M., Limon M.C., Codon A.C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains // *International Microbiology*. – 2004. – №7. – P. 249-260.
- 9 Howel C. Understanding of mechanisms employed by *Trichoderma virens* to effect biological control of cotton diseases // *Phytopathology*. – 2006. – Vol.96. – P. 178-180.
- 10 Aspите А.Ф. Ispol'zovanie trihodermina dlja zashhity rastenij ot fitopatogennyh mikromicetov / Aspите А.Ф., Shvinka Ju.Je., Strikauskas S.V. // *Vestnik sel'skhozjajstvennyh nauk*. – 1981. – №9. – С. 114-118.
- 11 Chef I. *Trichoderma* application, mode of action and potential as a biocontrol agent of soilborne plant pathogenic fungi / Chef I. // *In innovative Approaches to plant disease control*. – 1987. – P. 137-160.
- 12 Reino J.L. and et. al. Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma* // *Phytochem. Rev.* – 2008. – Vol.7. – P. 89-123.
- 13 Naumova I.A. Analiz semjan na gribnuju i bakterial'nuju infekciju. – Л.: Kolos, 1970. – 204 s.
- 14 Bilaj V.I. Fuzarii. – Kiev: Naukova dumka, 1977. – 442 s.
- 15 Kurkina Ju.I. Projavlenie al'ternarioza na kormovyh bobah i belom ljupine // *Zashhita i karantin rastenij*. – 2012. – №6. – С. 43-45.
- 16 Pidoplichko N.M. Griby – parazity kul'turnyh rastenij. Oprkdklitel' T. 2. – Griby nesovershennye. Izd-vo «Naukova dumka», Kiev. – 1977. – 298 s.
- 17 Sattон D., Fotergill A., Rinal'di M. Opredelitel' patogennyh gribov i uslovno-patogennyh gribov. – М.: Mir. – 2001. – 468 s.
- 18 Udol'skaja N.A. Vedenie v biometriju. Alma-ata: Nauka, 1976. – 72s.
- 19 Reznik K.A. Jelementy matematicheskoi obrabotki rezul'tatov izmerenij i tehnologicheskijh analizov. – М.: Агрпромиздат. – 1986. – 46 с.
- 20 Hanounik S.B. Influence of ronilan on severity of chocolate spot and yield in faba bean // *FABIS newsl.* – 1981. – №3. – P. 50-51.
- 21 Bouhassan A., Sadiki M., Tivoli B. Evolution of collection of faba bean (*vicia faba* L.) genotypes originating from the Maghreb for resistance to chocolate spot (*Botrytis fabae*) by assessment in the field and laboratory // *Euphytica*. – 2004. – №135. – R. 55-62.