

ЭКОФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ПЛАСТИЧНОСТЬ МИКРОМИЦЕТОВ РОДА TRICHODERMA В ЧЕРНОЗЕМНОЙ ЗОНЕ

ECOLOGICAL CHARACTERISTIC OF A CONDITION OF POPULATIONS OF SOME RARE ORNAMENTAL PLANTS OF THE LIPETSK REGION

T. Petrishcheva

Annotation

Autecologicheskyy characteristics of the micromycetes of the sort *Trichoderma* allocated from the chernozem and their sinekologicheskyy communications with components of ecosystems are studied: saprotrofy and phytopathogenic mushrooms and plants. Types, perspective for biotechnology as producers the tsellyuloliteskikh of enzymes and agents of biocontrol for bioremediation of the soil and fight against mushroom diseases without toxic action on plants are revealed.

Keywords: micromycetes, sinekologicheskyy communications, biological products, producers tsellyuloliteskikh of enzymes.

Петрищева Татьяна Юрьевна
К.биол.н., Елецкий
государственный университет
им. И.А. Бунина

Аннотация

Изучены аутэкологические характеристики выделенных из чернозема микромицетов рода *Trichoderma* и их синэкологические связи с компонентами экосистем: сапротрофными и фитопатогенными грибами и растениями. Выявлены виды, перспективные для биотехнологии в качестве продуцентов целлюлолитических ферментов и агентов биоконтроля для биоремедиации почвы и борьбы с грибными болезнями без токсического действия на растения.

Ключевые слова:

Микромицеты, синэкологические связи, биопрепараты, продуценты целлюлолитических ферментов.

Несовершенные грибы рода *Trichoderma* – сапротрофы, широко распространенные в почвах разных природных зон. Виды *Trichoderma* используются в биотехнологии для получения ферментов (*T. reesei*, *T. longibrochiatum* – продуценты целлюлаз; *T. viride*, *T. hamatum* – протеаз и пектиназ; *T. viride*, *T. harzianum* – хитиназ и ?–1,3–глюканаз) [1]. Виды этого рода используют также в качестве агентов биоконтроля, на основе культуры *T. lignorum* производят биопрепарат триходермин – средство борьбы с грибными болезнями растений [2].

Механизм воздействия *Trichoderma* на фитопатогены не совсем ясен: одни авторы связывают его с конкуренцией и миколитическим действием за счет синтеза литических ферментов [3,4], другие – с гиперпаразитизмом вида [2], третьи – с антагонистическим действием за счет синтеза токсичных вторичных метаболитов (глиотоксина, виридина, триходермина) [5]. Остаются неясными взаимоотношения *Trichoderma* с другими компонентами микробного сообщества почвы (микромицетами, бактериями) и с растениями.

Целью работы являлось изучение аутэкологических характеристик и биологической активности выделенных нами из чернозема выщелоченного видов рода *Trichoderma*, возможности их использования в биотехнологии.

Объектами исследования были 5 видов рода *Trichoderma*, из которых *T. koningii* является часто встречающимся видом в целинном черноземе, *T. harzianum* – переходит в ранг часто встречающихся видов в агроэкосистемах, остальные виды являются случайными [1]. Микромицеты выращивали на агаризованной среде Чапека при разных значениях температуры и pH, с разными источниками углерода (сахароза, пептон, СМС–карбоксиметилцеллюлоза). Радиальную скорость роста колоний *Vr* определяли по Билай [6].

Для изучения способности к биосинтезу внеклеточных гидролаз грибы выращивали 14 суток на жидкой среде Чапека с соответствующим источниками углерода. Биомассу определяли весовым методом. Ферментативную активность определяли в культуральной жидкости стандартными методами [1], рассчитывали удельную продукцию ферментов мицелием гриба (на единицу биомассы).

Фунгицидную активность видов определяли методом лунок [5,6], для чего фильтрат 14–суточных культур, выращенных на среде с сахарозой, вносили в лунку на агаризованной среде Чапека, засеянной тест–объектом. Измеряли радиус воздействия, которое проявлялось в виде стерильной зоны (ингибирование роста), морфогенетическими эффектами (снижение или отсутствие спороношения, синтез нехарактерных в контроле пигментов).

тов), либо в виде паразитизма (нарастание гриба на тест-объект).

В качестве тест-объектов использовали микромицеты, входящие в комплекс типичных для чернозема выщелоченного сапротрофных видов, а также широко распространенные в Черноземье фитопатогенные грибы, часть жизненного цикла которых проходит в почве.

Фитотоксические свойства микромицетов оценивали методом биотестов [6] тест-растение редис. Семена замачивали 2 часа в культуральной жидкости, оценивали всхожесть и рост корня и надземной части проростка.

Все виды *Trichoderma* являются ацидофилами, оптимум pH для роста составляет 4–5. Вид *T. album* оказался психрофильным, оптимальная температура роста составляет 15оС, остальные виды – мезофилы с оптимумом 30–35оС. Понятно, почему данный вид выделялся из почвы в основном весной и осенью.

Все исследованные виды *Trichoderma* являются гидролитиками, причем ферменты секретируют во внешнюю среду. Показано, что изменение ростовых параметров видов при смене источника углерода с сахарозы на полимерный субстрат хорошо соответствует их способности к биосинтезу соответствующих гидролаз (табл. 1). Так, виды, не снижающие или повышающие радиальную скорость роста *V_r* на пептоне, синтезируют протеазы (наиболее активно *T. harzianum*), на СМС – целлюлазы (*T. koningii*, *T. pseudokoningii*, *T. harzianum*). Однако по скорости роста вида не удается оценить соотношение компонентов ферментного комплекса.

Например, наилучшее соотношение эндоглюканаза/целлюлаза полиферментного целлюлазного комплекса обнаружено у вида *T. pseudokoningii* (12 по сравнению с 48–80 для других видов). Активность внеклеточ-

ной эндоглюканазы (СМСазы) аборигенного вида *T. pseudokoningii* сравнима с продукцией лучших сложных мутантов *T. reesei* [1], а более сбалансированный ферментный препарат позволит резко повысить скорость ферментативного гидролиза целлюлозы за счет удаления целлобиозы – ингибитора эндоглюканазы. Это позволяет рекомендовать данный вид в качестве продуцента целлюлазного полиферментного препарата для получения концентрированных глюкозных сиропов. Пока в биотехнологии для этого используют мультиэнзимные препараты эндоглюканазы *T. reesei* и целлюлазы *Aspergillus niger*.

Известно, что грибы рода *Trichoderma* синтезируют вторичные метаболиты с зоотоксическим действием [2]. Для того, чтобы прояснить роль этих веществ в системе почва–микробное сообщество–растения, нами были изучены фунгицидные и фитотоксические свойства видов.

Все виды рода *Trichoderma* проявляли фунгицидный эффект по отношению к ограниченному числу типичных для чернозема сапротрофных микромицетов: подавляли рост мицелия *Rhizopus stolonifer*, *Mucor hiemalis*, *Aspergillus ustus*, *A. wentii*, *Talaromyces flavus*; оказывали морфогенетическое действие с подавлением спороношения на *A. clavatus*, *A. ochraceus*, *Penicillium daleae*. Как установлено нами ранее, эти виды микромицетов накапливаются в старопашотных почвах и являются индикаторами микробного почвоутомления [7].

Внесение *Trichoderma* не вызывает длительных нарушений микробного сообщества [8], будет способствовать биоремедиации черноземов в агроэкосистемах.

По отношению к фитопатогенным грибам – возбудителям листостебельных инфекций *Cladosporium herbarum*, *Alternaria tenuis*, *Botrytis cinerea*, и возбудителям корневых гнилей *Bipolaris sorokiniana* и видам рода

Таблица 1.

Коэффициенты корреляции между длиной тела, массой тела и соматическими компонентами, оценёнными двумя методами.

Виды <i>Trichoderma</i>	Кг, мм/ч			Активность, ед/ г биомассы		
	сахароза	пептон	СМС	протеаза	СМСаза	целлюлаза
<i>koningii</i>	0,6	0,7	1,1	2,9	240	3
<i>harzianum</i>	1,1	1,7	1,3		117	2
<i>viride</i>	1,4	1,4	1,9	3,3	190	4
<i>album</i>	0,5	0,7	0,2	0,3	35	1
<i>pseudokoningii</i>	0,7	0,8	1,0	4,9	410	36

Таблица 2.

Биологическая активность видов рода *Trichoderma*.

Виды <i>Trichoderma</i>	Фунгицидная активность, количество видов			Фитотоксическая активность, %		
	ингибирование		гипер парази- тизм	ингибирование		
	роста мицелия	споро- ношения		всхожести	роста корня	роста стебля
<i>koningii</i>	8	7	0	16	24	19
<i>harzianum</i>	14	3	4	2	+10	+4
<i>viride</i>	5	5	0	19	46	37
<i>album</i>	1	3	0	22	29	40
<i>pseudokoningii</i>	2	3	0	35	38	59

Fusarium наибольшую активность проявил вид *T. harzianum* (табл. 2). По-видимому, фунгицидные свойства этого вида определяются не только способностью к синтезу активных микотоксинов и протеаз (радиус стерильной зоны 15–25 мм), но проявляются и контактно в виде гиперпаразитизма – роста на мицелии ряда фитопатогенов (радиус зоны нарастания до 10 мм).

Виды рода *Trichoderma* различались по спектру токсического воздействия вторичных метаболитов: наиболее сильное фитотоксическое действие проявляли виды *T. viride* и *T. pseudokoningii*, а вид *T. harzianum* не только не подавлял, но и несколько стимулировал развитие тест-растения.

Именно этот аборигенный вид с выраженным фунги-

цидным и антибиотическим действием, но без фитотоксического эффекта перспективен как агент биоконтроля на черноземе.

Таким образом, на основании изучения аутоэкологических характеристик и синэкологических связей видов рода *Trichoderma* в системе почва–микробное сообщество–растения установлена экофизиологическая пластичность рода в Черноземной зоне.

Для биотехнологии предложен вид *T. pseudokoningii* в качестве продуцента активного и сбалансированного по составу комплекса целлюлолитических ферментов, и вид *T. harzianum* – в качестве агента биоконтроля для биоремедиации черноземов и борьбы с грибными заболеваниями растений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Свистова И.Д. Микромицеты чернозема – продуценты целлюлолитических ферментов. Воронеж: ВГУ, 2003. – 152 с.
2. Билай В.И. Основы общей микологии. – Киев: Выща школа. 1989. – 392 с.
3. Маркович Н.А., Кононова Г.Л. Литические ферменты *Trichoderma* и их роль при защите растений от грибных болезней // Прикл. биохим. и микробиол. 2003. Т. 39. № 4. С. 389–400.
4. Мирчинк Т.Г. Почвенная микология. – М.: МГУ, 1988. – 220 с.
5. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. – М.: МГУ. 1994. – 512 с.
6. Методы экспериментальной микологии. – Киев: Наукова думка, 1982. – 550 с.
7. Свистова И.Д., Щербак А.П., Фролова Л.О. Токсины микромицетов чернозема: спектр биологического действия и роль в формировании микробного сообщества чернозема // Почвоведение. 2004. №10. 1220–1227.