

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

**МАГІСТЕРСЬКА РОБОТА**

06.07 – МР. 1717 «С». 2021.12.04. 17 ПЗ

НУБІП України

ВЕРЕТІЛЬНИК ІГОР ВОЛОДИМИРОВИЧ

НУБІП України

2021

Н

Н

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І  
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ  
Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології

УДК 504.5:628.4.047(477-25)

ПОГОДЖЕНО ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ  
Декан факультету Завідувач кафедри  
захисту рослин, біотехнологій та екології інтегрованого захисту та карантину  
рослин

Коломієць Ю.В. Доля М.М.  
« » 2021 р. « » 2021 р.

МАГІСТЕРСЬКА РОБОТА  
на тему «Зміна вмісту <sup>137</sup>Cs та <sup>90</sup>Sr в ґрунтах і рослинах та території  
Голосіївського району м. Києва»  
Спеціальність 202 «Захист і карантин рослин»  
(код і назва)

Освітня програма: Захист рослин  
(назва)  
Орієнтація освітньої програми: освітньо-професійна  
(освітньо-професійна або освітньо-наукова)

Керівник магістерської роботи  
Д. С.-Г. наук, професор  
(науковий ступінь та вчене звання)  
К. С.-Г. наук, доцент  
(науковий ступінь та вчене звання)  
Коломієць Ю.В.  
(підпис) (ПШ)  
Сикало О.О.  
(підпис) (ПШ)

Виконав Веретільник І.В.  
(підпис) (ПШ студента)  
КИЇВ-2021

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І  
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології

Кафедра інтегрованого захисту та карантину рослин

Освітня програма «Магістр»

Напрямок підготовки 202 «Захист і карантин рослин»

ЗАТВЕРДЖУЮ  
Завідувач кафедри

“ ” 2021 р.

З А В Д А Н Н Я  
НА ВИПУСКНУ  
МАГІСТЕРСЬКУ РОБОТУ СТУДЕНТА

Веретільника Ігоря Володимировича

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи «Ефективність дії грибів *Trichoderma* на фізіолого-біохімічні процеси рослин пшениці»

керівник роботи д.с.-т.н., професор Коломієць Юлія Василівна

(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

затверджені наказом НУБіП України від “4” грудня 2021 р. № 1717«С»

2. Строк подання студентом роботи 10 листопада 2021 року

3. Вихідні дані до роботи насіння сортів пшениця Смуглянка, Подолянка, Антонівка, експлантати фотосинтетичної системи

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити):

1. Визначити вплив *Trichoderma lignorum* на енергію проростання і схожість рослин пшениці

2. Встановити вплив грибів *Trichoderma lignorum* на фізіолого-морфологічні параметри рослин пшениці

3. Оцінити зміну площі листкової поверхні у рослин пшениці під дією грибів *Trichoderma lignorum*

4. Виявити зміну вмісту хлорофілу а і b в листках рослин пшениці під дією грибів *Trichoderma lignorum*

5. Дослідити вплив грибів *Trichoderma lignorum* на накопичення білків і вуглеводів в рослинах пшениці

6. Визначити антагоністичну активність штамів *Trichoderma lignorum*

5. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата завдання видав	Підпис, дата завдання прийняв
1	д.с.-г.н., професор Коломієць Ю.В.		
2	д.с.-г.н., професор Коломієць Ю.В.		
3	д.с.-г.н., професор Коломієць Ю.В.		

6. Дата видачі завдання – 1 вересня 2020 року

### КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів випускної магістерської роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	Визначити вплив <i>Trichoderma lignorum</i> на енергію проростання і схожість рослин пшениці	Вересень-жовтень	
2	Встановити вплив грибів <i>Trichoderma lignorum</i> на фізіолого-морфологічні параметри рослин пшениці	Листопад-грудень	
3	Оцінити зміну площі листової поверхні у рослин пшениці під дією грибів <i>Trichoderma lignorum</i>	Січень-лютий	
4	Виявити зміну вмісту хлорофілу а і б в листках рослин пшениці під дією грибів <i>Trichoderma lignorum</i>	Брезень-квітень	
5	Дослідити вплив грибів <i>Trichoderma lignorum</i> на накопичення білків і вуглеводів в реєлинах пшениці	Квітень-травень	
6	Визначити антагоністичну активність штамів <i>Trichoderma lignorum</i>	Вересень-жовтень	

Студент \_\_\_\_\_ (підпис)  
 Керівник роботи \_\_\_\_\_ (підпис)  
 Веретільник І.В. \_\_\_\_\_ (прізвище та ініціали)  
 Коломієць Ю.В. \_\_\_\_\_ (прізвище та ініціали)

## Реферат

Робота виконана на 63 сторінках, містить 3 розділи, 8 рисунків, 7 таблиці, 80 використаних джерел.

Мета роботи полягала у дослідженні антагоністичної активності і впливу грибів *Trichoderma lignorum* на фізіолого-біохімічні процеси рослин пшениці.

Встановлено, що стимулюючий ефект дії даного мікроорганізму виявлявся вже на самих ранніх стадіях розвитку рослин, починаючи з проростання насіння. Передпосівна обробка насіння спорами *Trichoderma lignorum* приводила до підвищення їх енергії проростання і схожості, збільшувала кількість листя, довжину надземної частини, кореневої системи, сприяла накопиченню біомаси рослиною, позитивно впливала на площу листкової поверхні. Морфологічні зміни, що відбуваються в рослині це перше, що ми можемо зафіксувати. Однак ці зовнішні прояви є результатом більш глибоких змін, що відбуваються всередині рослини. Необхідно враховувати, що між даними мікроорганізмами і тканинами залежного рослини відбувається безпосередня взаємодія. Даний факт свідчить про те, що саме екзометаболіти, що виділяються грибами *Trichoderma lignorum* можуть включатися в метаболізм рослин і впливати на біохімічні та біофізичні процеси, що протікають в рослинах, що, в кінцевому рахунку, впливає на продуктивність рослин, яка виявляється в збільшенні їх біомаси.

Відзначено, що *Trichoderma lignorum* значно збільшувала накопичення білків і вуглеводів протягом усього періоду вегетації. Однак ефективність дії *Trichoderma lignorum* виявлялася в залежності від сортоспецифічності рослини. Найбільш істотне збільшення загального вмісту вуглеводів і білків було у рослин низьковрожайного сорту Смуглянка. На всіх термінах вегетації рослини, насіння яких були оброблені спорами гриба *Trichoderma lignorum*, вміст загального хлорофілу був більший ніж у рослин, що не піддавалися обробці.

Досліджено антагоністичну та ферментативну активність виділених штамів антагоністів мікроскопічних грибів роду *Trichoderma* по відношенню до фітопатогенних грибів роду *Fusarium*.

Встановлено, що всі антагоністи, що досліджуються, здатні з різним ступенем інгібувати ріст та розвиток досліджуваних грибів роду

*Fusarium*. Встановлено ферментативну активність (хітіназну, ліпазну, протеїназну) досліджуваних антагоністів. У міксоміцетів роду

*Trichoderma* відзначена середня та сильна, та слабка ферментативна активність.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

ЗМІСТ	
Вступ .....	9
Розділ 1. Огляд літератури .....	11
1.1. Взаємодія рослин з мікроорганізмами .....	11
1.1.1. Взаємодія рослин з фітопатогенними мікроорганізмами .....	11
1.2. Взаємодія рослин з мікроорганізмами-антагоністами патогенів грибного походження. Вплив грибів роду <i>Trichoderma</i> на ріст і розвиток рослин .....	17
1.3. Особливості C3-типу фотосинтезу рослин .....	19
Розділ 2. Об'єкти і методи досліджень .....	26
2.1. Об'єкт дослідження .....	26
2.2. Отримання стерильних рослин пшениці <i>in vitro</i> .....	27
2.3. Методика визначення біометричних показників .....	29
2.4. Методика визначення вмісту хлорофілу .....	29
2.5. Визначення сумарних вуглеводів методом Дюбуа .....	30
2.6. Виділення сумарних білків .....	31
2.7. Визначення антагоністичної активності штамів <i>Trichoderma</i> ..	32
Розділ 3. Результати досліджень .....	34
3.1. Вплив <i>Trichoderma lignorum</i> на енергію проростання і схожість рослин пшениці .....	34
3.2. Вплив грибів <i>Trichoderma lignorum</i> на фізіолого-морфологічні параметри рослин пшениці .....	36
3.3. Зміна площі листкової поверхні у рослин пшениці під дією грибів <i>Trichoderma lignorum</i> .....	41
3.4. Зміна вмісту хлорофілу а і b в листках рослин пшениці під дією грибів <i>Trichoderma lignorum</i> .....	43
3.5. Вплив грибів <i>Trichoderma lignorum</i> на накопичення білків і вуглеводів в рослинах пшениці .....	48

3.6. Оцінка антагоністичної та ферментативної активності  
мікроорганізмів-антагоністів *Trichoderma lignorum* ..... 51  
Висновки ..... 56  
Список використаних джерел ..... 57

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України



## ВСТУП

Серед біотичних факторів великий вплив на рослинний організм надають ґрунтові мікроорганізми. Вплив мікроорганізмів може позначатися як негативно, так і позитивно на ростові процеси рослин [15, 20].

Фітопатогенні мікроорганізми синтезують фітотоксини, здатні пригнічувати або затримувати ріст рослин, а іноді і зовсім приводити до їх загибелі [30, 55]. Рослини взаємодіють і з корисними мікроорганізмами, які є продуцентами комплексу антибіотичних речовин, що володіють високою фізіологічною активністю і пригнічують ріст цілого ряду фітопатогенних грибів і бактерій, що дозволяє їм досить швидко витіснити з ґрунтів або субстратів патогенну мікрофлору [10,

18]. Їх антагоністичні властивості використовуються в сільськогосподарській біотехнології для розробки і виробництва біологічних засобів захисту рослин проти ряду захворювань [22, 56].

Мікроорганізми-антагоністи фітопатогенів здатні надавати позитивний вплив на комплекс фізіолого-біохімічних програм, які протікають в рослинному організмі: підвищувати доступність для рослин елементів живлення за рахунок фіксації азоту, солідобілізації фосфатів, поліпшення водного і мінерального статусу, що визначає формування врожаю; а також зменшують стресовий вплив на рослину несприятливих умов середовища [44, 60].

З'ясування механізмів формування та функціонування асоціацій рослин і мікроорганізмів є одним з актуальних питань біології. Нині накопичено багато даних про процеси, що відбуваються на поверхні кореня і в прикореневій зоні [8, 14, 23]. Більшість робіт присвячено дослідженню закономірностей формування і розвитку мікробних спільнот на кореневої поверхні в різні фази росту і розвитку рослин; співвідношенню і складу груп мікроорганізмів в ризосфері окремих

НУБІП України  
видів рослин [35, 46]. Однак фізіолого-біохімічні зміни, що відбуваються в рослинах, під впливом мікроорганізмів багато в чому залишаються нез'ясованими. Вивчення механізму взаємодії вищих рослин з

мікроорганізмами-антагоністами фітопатогенів відкриває перспективи

їх використання в регуляції ростових процесів рослинних організмів і

НУБІП України  
вимагає більш детального розгляду. Принципово новим є вивчення біофізичних процесів, що відбуваються в рослині під дією мікроорганізмів антагоністів фітопатогенів.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

# НУБІП України

## РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### НУБІП України

#### 1.1. Взаємодія рослин з мікроорганізмами

В умовах високої спеціалізації і концентрації сільськогосподарського виробництва проведення захисних заходів – невід'ємний фактор отримання високих і гарантованих врожаїв сільськогосподарських культур, збереження їх якості.

### НУБІП України

Висока ефективність і універсальність хімічного методу захисту рослин, швидка окупність зробили його домінуючим в системі захисних заходів. Однак широке і повсюдне застосування хімічних засобів захисту

### НУБІП України

рослин призводить до появи нових стійких форм шкідливих організмів, це в свою чергу, тягне за собою необхідність збільшення норм витрати препаратів і їх асортименту.

### НУБІП України

В біометоді використовуються різні мікроорганізми, які надають позитивний вплив на розвиток рослин, при цьому пригнічують збудників фітозахворвань. Величезний інтерес вчених проявляється до ґрунтових грибів.

### НУБІП України

Як показують дослідження, в якості стимуляторів росту та розвитку рослин можуть виступати мікроорганізми-антагоністи патогенів, здатні утворювати асоціації з корінням рослин і надавати крім захисного ефекту пряму стимулюючу дію на ріст і розвиток рослини. До таких мікроорганізмів відносяться гриби роду *Trichoderma* [4]. У зв'язку з цим, вивчення взаємодії мікроорганізмів-антагоністів патогенів та рослин в даний час становить

### НУБІП України

великий науковий інтерес і особливо актуально в зв'язку з можливістю альтернативної заміни пестицидів на речовини біологічної природи.

#### 1.1.1. Взаємодія рослин з фітопатогенними мікроорганізмами

У природних умовах мікрофлора прикореневої зони рослини представлена різного роду мікроорганізмами, кількість і співвідношення видів яких постійно і змінюється протягом вегетаційного періоду, і залежить

від чинників навколишнього середовища. У той же час життєдіяльність рослин залежить від співвідношення фітопатогенів і їх антагоністів в ґрунті,

яке визначає ростові процеси рослин. Значної шкоди розвитку рослин наносять фітопатогени такі як *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Alternaria*, *Verticillium*, *Sclerotinia*, *Botrytis*, *Phytophthora*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Epicoccus*, *Penicillium* [15].

Фітопатогенні мікроорганізми, що мешкають в ґрунті і ризосфері рослин, використовують різноманітні шляхи зараження рослини з метою споживання його метаболітів. Джерела зараження фітопатогенними мікроорганізмами різні.

Одним з найважливіших джерел зараження є насіння. Потрапляючи всередину або на поверхню насіння, фітопатогенні мікроорганізми знаходять підходяще місце для перезимівлі. При проростанні насіння вони можуть заражати сходи, а потім по проводячих судинах пересуватися в рослини і заражати дорослі рослини в період вегетації. Крім того, chore насіння може

служити джерелом поширення інфекції [18]. Проникнувши в тканини рослини паразит виділяє різні речовини, комплекс яких отримав назву токсинів. До складу токсинів входять ферменти, можуть входити деякі органічні кислоти і аміни, специфічні полісахариди та інші різноманітні

сполуки. Виділяючи токсини, паразит вбиває клітини рослини-господаря, харчуючись продуктами розкладання цих мертвих клітин.

Розвиток патологічного процесу супроводжується появою на рослині ознак або симптомів хвороби. Кожному захворюванню властиві свої характерні ознаки або симптоми. У уражених сходів відбувається побуріння і загнивання коренів, а також потоншення прикореневої частини стебла.

Часто загибель сходів відбувається ще до виходу їх на поверхню. При зараженні рослин в більш пізні фази спостерігається відставання рослин у

рості і розвитку. У злаків, крім загнивання коренів, часто відбувається відмирання стебел або спостерігається пуєта колосу.

Крім того, уражені кореневою гниллю рослини, як правило, легко висмикуються з ґрунту [2].

Під впливом патогенних організмів у рослин протягом вегетації порушуються найважливіші фізіологічні функції, такі як:

- фотосинтез;
- переміщення асимілятів з місць їх утворення (листя) в запасуючі органи (насіння, коріння, стебла);

- дихання, формування та зберігання запасних поживних речовин;
- меристематична активність (ростові процеси);
- поглинання води і поживних речовин і переміщення їх з коренів в надземні органи.

На сьогоднішній день є чимало інформації про основні етапи взаємодії грибних патогенів з рослинною клітиною, в результаті якого починається захисна реакція [17].

Відповідь рослини починається з взаємодії спеціальних молекул – елісатора з рецептором клітинної мембрани, які забезпечують ініціацію сигналу, потім відбувається його трансдукція і в кінцевому рахунку відбувається відповідь генома. Відомо кілька сигнальних шляхів, через які здійснюється цей процес.

У тому числі є відомості про участь в початковій стадії передачі сигналу підвищення концентрації кальцію в цитоплазмі, яка може бути наслідком модифікації іон-транспортних систем плазматичної мембрани [25].

У послідовності реакцій, що забезпечують передачу і посилення сигналу при грибній агресії, бере участь ряд речовин, які відіграють ключову роль. Наприклад, жасмонова кислота, саліцилова кислота [34].

Деякі ґрунтові бактерії з родів *Erwinia* і *Xanthomonas*, *Rhizium*, *Phytophthora*, *Verticillium* і гриби роду *Fusarium* можуть бути в тій чи іншій мірі патогенними для рослин. Особливою патогенністю відрізняються –

*F. oxysporum*, *F. avenaceum*, *F. solani*, *F. culmorum*, *F. gibbosum*, *F. semitectum*,  
*F. javanicum*, *F. heterosporum*.

Фузаріоз зерна – широко поширене в світі захворювання, повсюдно знижує врожай і якість сільськогосподарської продукції.

Фузаріоз зерна з багатьох аспектів є унікальним захворюванням рослини, надзвичайно важким для вивчення. Одна з його відмінних рис – специфічна етіологія – участь в патогенному процесі комплексу різних видів грибів роду *Fusarium*.

Ураження ними рослин не тільки знижує урожай, але і значно погіршує його якість. Гриби роду *Fusarium* в процесі життєдіяльності виділяють токсичні вторинні метаболіти – мікотоксини (фузаріотоксини), в результаті чого зерно стає непридатним для використання в їжу і на корм [16, 25].

Мікотоксини – низькомолекулярні вторинні метаболіти, які продукують токсигенними мікроскопічними грибами. Токсигенність – це здатність організму утворювати речовини, що володіють токсичною дією на інші організми.

В останні роки стало очевидно існування суворого зв'язку між видом гриба і спектром мікотоксинів, які він продукує. Виявлено та вивчаються гени, відповідальні за біосинтез тієї чи іншої групи мікотоксинів, що дозволяє встановлювати генетичну детермінованість цієї ознаки для певного виду гриба.

ТрМТ (трихотеценові мікотоксини) – найбільш широко поширена і вивчена група метаболітів, які продукуються грибами. За хімічною будовою вони поділяються на групи А (включає Т-2 і НТ-2 токсини, діацетоксиспиренол – ДАС, моноацетоксис-спиренол – МАС, неосоланіол – НЕО) і групу В (ДОН, НІВ і їх моноацетат і діацетат похідні) [47].

Вважається, що Трихотецени групи А в основному більш токсичні, ніж групи В, а Т-2 токсин – один з найбільш остротоксичні серед фузаріотоксинів [51].

Основні продуценти ТрМТ групи В – види *F. graminearum*, *F. culmorum* і *F. cerealis*. Відомо, що існують два хемотипів ізолятів грибів *F. graminearum*



*F. culmorum*) здатні продукувати або ДОН, або НІВ. Проведений аналіз ізолятів цих видів, що походять з різних регіонів України показав, що всі вони відносяться до ДОН-хемотипів [34].

Зазвичай використовується назва захворювання «фузаріоз колоса, волоті, качана» відображає, як правило, прояв симптомів, пов'язаних з формуванням масового спороношення на поверхні рослинної тканини. Але зараження зерна, навіть значне, може супроводжуватися повною відсутністю симптомів захворювання або слабким проявом на колоскових лусках / качанах.

Фузаріоз колоса пшениці проявляється на поверхні ураженого колоса у вигляді блідо-рожевого нальоту, при сильному розвитку поширюється по всьому колосі (рис. 1.1).



Рис. 1.1. Фузаріоз колоса пшениці.

Уражене зерно пшениці стає тьмяним, брудно бурим, з рожевими плямами, легко кришиться. Як це зазвичай для захворювань фузаріозної етіології, якщо в колосі пшениці поруч з осередком фузаріозного ураження формуються зерна без ознак захворювання, то вони також є інфікованими [26].

Сумарна кількість уражених зерен після обмолоту колосу в 2-3 рази вище, ніж при візуальному огляді [26].

Фузаріоз зерна погіршує посівні якості насіння, харчові якості зерна і продуктів його переробки і тому в усьому світі розглядається як одне з найбільш шкідливих захворювань сільськогосподарських культур [33].

Більша частина життя грибів проходить безстатеву стадію розвитку, що включає розвиток вегетативного міцелію, конідій та утворення хламідоспор (для деяких видів, здатних до цього).

Вегетативне спороношення гриба на рослинній тканині, зараження нових рослин і знову утворене спороношення можуть бути лімітовані тільки відсутністю чутливого поживного субстрату і настанням несприятливих умов для розвитку гриба. Відносна простота формування конідій дозволяє грибу за короткий проміжок часу утворювати величезну кількість інфекційних структур.

Гриби, як і всі інші організми, постійно відчувають вплив факторів навколишнього середовища. Широке поширення одних видів грибів і вузьколокальне – інших, регулярні епіфітотії в одних регіонах і незначний розвиток захворювання в інших, в першу чергу, пов'язані з умовами середовища.

До біотичних факторів можна віднести наявність субстрату, на якому можуть жити і розвиватися гриби. Широка амплітуда пристосувальних реакцій, характерна для грибів роду *Fusarium*, робить успішну інтродукцію нових видів можливою.

Також до біотичних факторів можна віднести сортові особливості рослини господаря, склад мікофлори і багато інших, які змінюють щільність популяції патогенів та впливають на інтенсивність розвитку захворювання.

На поширення грибів і викликані ними захворювання значно впливають абіотичні (опади, температура, вологість повітря, тумани і роси і ін.) і технологічні (характеристика сівозміни, насиченість сівозміни рослинами і господарями, вміст азоту в ґрунті і його співвідношення з фосфором, засміченість) чинники [30].



У зв'язку зі значним числом видів фузарієвих грибів, здатних інфікувати зерно і продукувати мікотоксини в широкому діапазоні температур, лімітуючим фактором для розвитку захворювання рослин є дефіцит вологості. Особливо небезпечно, якщо період підвищеної вологості збігається з цвітінням – періодом найбільшої сприйнятливості рослини до зараження патогеном.

Види грибів роду *Fusarium* розрізняються по екологічним потребам, тому вони розподілені по різних природних нішах не випадковим чином – умови середовища впливають на видовий склад патогенів.

Зазвичай фузаріоз зерна – захворювання, характерне для зон з теплим і вологим кліматом [29].

Однак багато видів роду *Fusarium* є екологічно пластичними грибами і поширені у всіх зерносіючих регіонах України, включаючи і регіони з недостатнім зволоженням в вегетаційний період.

Спостерігається деяка, не завжди суворя, до сих пір не має точного пояснення приуроченість видів роду *Fusarium* до рослини-господаря. Ймовірно, існує підвищена атрактивність хімічного складу тканин рослин для певного виду гриба, або ж відбувається збіг фаз максимальної інфекційної активності патогена і найбільшою сприйнятливості рослини.

Такий зв'язок показано для виду *F. verticillioides* і кукурудзи, *F. thapsinum* і сорго, *F. poae* і вівса. Як правило, на зерні жита зустрічаються *F. avenaceum* вище, ніж інших видів фузарієвих грибів, *F. equiseti* – частіше виділяється з зерна ячменю, ніж інших культур [36].

## 1.2. Взаємодія рослин з мікроорганізмами-антагоністами патогенів грибного походження. Вплив грибів роду *Trichoderma* на ріст і розвиток рослин

Існують мікроорганіزمи-антагоністи патогенів грибного походження, які можуть бути використані в якості біоагентів для покращення

життєдіяльності рослин, це гриби родів: *Gliocladium*, *Trichoderma*, *Ampelomyces*, *Candida*, *Coniothyrium* [15].

Антагоністичні взаємини епіфітних мікроорганізмів виявляються:

– в придушенні антибіотиками;

– «захопленні» життєвого простору (по відношенню до патогенів, проникають через прорихи, – «захоплення» прорихів);

– конкуренції за поживні речовини, які виділяються рослиною-господарем;

– провокуванні антагоністами-сапротрофами захисних реакцій рослини-господаря, спрямованих проти паразитів, і т. д. (Красильников, 1958).

В останні роки в зв'язку з бурхливим розвитком біотехнології зростає інтерес до мікроскопічних грибів роду *Trichoderma*, які привертають увагу дослідників у зв'язку з їх практичним значенням для отримання біологічно активних речовин, засобів захисту рослин.

Гриби роду *Trichoderma* характеризуються безбарвним міцелієм що створює білі, жовті, частіше зелені або темно-зелені колонії. Конідії одноклітинні, майже кулясті (2,5–3,7 мкм), зібрані в головки по 10–20 штук на кінцях розгалужених конідієносців. Гриб утворює кулясті хламідоспори розміром 7,5–15 мкм (рис. 1.2).

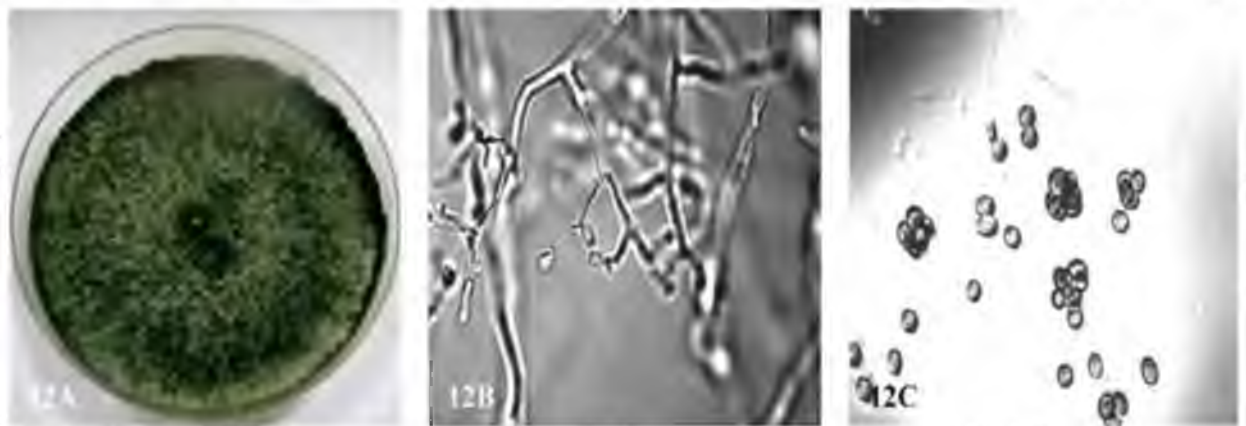


Рис. 1.2. Морфологія *Trichoderma*: 1 – конідіофори; 2 – спори [Th. Komala, 2015].

Наявність джерел живлення, а також абіотичні фактори зовнішнього середовища: температура, вологість, рН середовища істотно впливають на розвиток грибів роду *Trichoderma* і активність їх взаємодії з патогенами [70].

Спори проростають тільки в умовах оптимальної вологозабезпеченості субстрату – 70–100 %, а при 20 % вони не проростають.

Оптимальною для розвитку *T. lignorum* є температура 24–28 °С, *T. harzianum* – 24–25 °С, а для *T. viride* – 35 °С.

Оптимальною для видів *Trichoderma* є кислотність ґрунту в межах від 4 до 6.

В силу таких біологічних і екологічних умов розвитку гриби роду *Trichoderma* широко поширені в ґрунтах всієї земної кулі і проявляють активність щодо багатьох ґрунтових фітопатогенних грибів.

Вони відіграють ключову роль в співтоваристві мікроорганізмів і застосовуються в багатьох областях людської діяльності. Види цього роду використовуються для біологічного контролю хвороб рослин і біологічну очистку ґрунту [70].

Гриби роду *Trichoderma* володіють трьома формами антагонізму:

- здатністю швидко освоювати субстрат, витісняючи повільно ростучі організми;
- гіперпаразитичною активністю;
- здатність продукувати антибіотичні речовини.

*Trichoderma* широко використовується для поліпшення життєдіяльності рослин. Вона може впливати на прикореневу мікрофлору рослини [1].

При дослідженні біології мікроміцетів в першу чергу акцентують увагу на його інгібуючу активність щодо фітопатогенних грибів, таких як *Fusarium oxysporum*. Тому гриби роду *Trichoderma* використовуються в світовій практиці для створення і розробки біологічних препаратів, виходячи з високого антагоністичного потенціалу, швидкості росту і можливості культивування в виробничих умовах.

НУВБІП УКРАЇНИ

Під впливом антагоністів у патогенів змінюються форма і величина колоній і клітин або порушуються процеси росту, розвитку, розмноження. Порушуються також процеси харчування і синтез життєво важливих з'єднань, дихання, діяльність ферментних систем і інше.

НУВБІП УКРАЇНИ

*Trichoderma* здатна паразитувати на стадіях спокою патогенних грибів, харчуючись або руйнуючи їх. Активна антагоністична стадія гриба конідіальна. У цей період він продукує ряд високотоксичних антибіотиків – гліотоксин, віридин, триходермін, аламетіцин, дерміцин. Гриби роду *Trichoderma* знищують в ґрунті в стані спокою або зимуючої стадії хвороботворних мікроорганізмів, тобто мають пролонговану дію після застосування [5].

НУВБІП УКРАЇНИ

Летючі речовини, які продукуються грибами роду *Trichoderma*, мають фізіологічно-активні властивості і ефективніше діють на гриби, слабкіше – на бактерії і актиноміцети.

НУВБІП УКРАЇНИ

На даний момент розроблені деякі біопрепарати, створені на основі грибів – антагоністів (трихотецин, триходермін-БЛ, деструксин, боверіцин, мікоафідін-Т, вертіцилін-М і ін.).

НУВБІП УКРАЇНИ

Розробка на їх основі екологічно чистих технологій є важливим напрямком в екологічній біотехнології.

НУВБІП УКРАЇНИ

Відомо, що *Trichoderma* виділяє різні метаболіти фактори росту (ауксини, цитокіни і етилен), органічні кислоти, внутрішньоклітинні амінокислоти, вітаміни і понад 100 антибіотичних речовин, які ефективні в придушенні фітопатогенних грибів і грампозитивних бактерій, вони здатні в значній мірі позитивно впливати на перехід багатьох іонів (фосфати, цинк,  $Mn^{4+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Cu^{2+}$ ) з нерозчинних в розчинну форму, що в значній мірі впливає на засвоєння цих елементів корінням [1].

НУВБІП УКРАЇНИ

Фітогормони *Trichoderma* (цитокініни) відповідають за стимуляцію фізіологічних процесів рослин, надходять в рослинний організм і призводять до більш активного його розвитку [5]. З тканини гриба можна отримати

трихотетин – антибіотик і триходермін – засіб захисту рослин від грибних хвороб.

Встановлено, що одночасна дія летючих і нелетючих антибіотиків, що продукуються *Trichoderma harzianum*, пригнічує ріст фітопатогенів *Fusarium culmorum*, *Bipolaris sorokiniana*, *Colletotrichum*, *Helminthosporium* і *Rhizoctonia* [23].

Дані, отримані при дослідженні впливу грибів *Trichoderma harzianum* на проростання насіння в умовах біотичного (захворювання, погана якість насіння) і абіотичного стресу (засолення, знижені і підвищені температури), показали, що якщо насіння не піддається стресу, мікроміцети мають незначний вплив на проростки.

В умовах стресу насіння, оброблені грибами роду *Trichoderma*, проростають швидше і більш рівномірно, ніж необроблене насіння. Головний фактор, який негативно впливає на рослини в стресових умовах, – накопичення токсичних активних форм кисню, обробка насіння зменшує накопичення перекисів ліпідів при осмотичному стресі і при старінні насіння. Було показано, що застосування грибів роду *Trichoderma* робить позитивний вплив на проростання насіння, як і застосування антиоксидантів [23].

Протеомні і транскриптомні дослідження показали, що колонізація коренів рослин грибами роду *Trichoderma* викликає системні зміни в експресії генів рослин, що беруть участь у видаленні активних форм кисню, в реакціях на стрес, в біосинтезі ізопреноїдних оксіліпінів і етилену, в фотосинтезі, в фотодиханні і в вуглеводному обміні. Було показано, що пептидні антибіотики і білки SmI, які продукують грибовими клітинами, відповідають за системну активацію захисних реакцій в листі.

Продукти життєдіяльності гриба роду *Trichoderma* здатні посилювати обмін речовин, збільшувати схожість насіння, прискорювати розвиток рослини, підвищувати накопичення запасних речовин і впливати на характер біохімічних процесів [1].

### 1.3. Особливості C<sub>3</sub> – типу фотосинтезу рослин

Фотосинтез – унікальний процес, що становить основу життя на Землі і продуктивності сільськогосподарських культур. За рахунок фотосинтезу формується приблизно 90 % маси сухої речовини рослини, що обумовлює провідну роль цього процесу під час проектування шляхів підвищення продуктивності рослин.

Відзначено, що темпи зростання врожайності основних сільськогосподарських культур в останні роки істотно знизилися [15].

Особливо це проявилось для пшениці, найбільш важливою культури в продовольчому забезпеченні великих регіонів Євразії, Америки та Австралії [23]. Середній за десятиліття зростання світового виробництва пшениці за останні 30 років знизився з більш ніж 30 до 1%, що пов'язано, в першу чергу,

з падінням темпів збільшення генетичного потенціалу врожайності нових сортів. На думку експертів Міжнародного Пшеничного Консорціуму це пов'язано з вичерпанням можливостей підвищення врожайності за рахунок факторів, що забезпечили бурхливе зростання продуктивності пшениці після «зеленої революції» – поліпшення розподілу біомаси рослини на користь

більшого колоса і збільшення відносної маси зерна, а також зростання площі листя, що дозволило формувати посіви з високою ефективністю поглинання сонячної радіації [22, 23]. Експерти Консорціуму підраховали, що для задоволення потреб зростаючого населення Землі необхідно збільшити

потенціал продуктивності пшениці на 50 % протягом найближчих 20 років. В якості одного з найбільш значущих чинників для досягнення цієї мети було названо збільшення потужності і ефективності фотосинтетичного апарату.

Стратегії поліпшення врожайності шляхом підвищення продуктивності фотосинтезу широко дискутуються у світовій і вітчизняній літературі [5, 10,

21]. Серед найбільш перспективних підходів виділяють: підвищення активності РБФКО (за рахунок зростання вмісту ферменту в листі і поліпшення його кінетичних параметрів); збільшення швидкості регенерації РБФ в циклі Кальвіна; трансформацію C<sub>3</sub> шляху асиміляції CO<sub>2</sub> в C<sub>4</sub>;



підвищення інтенсивності фотосинтезу внаслідок оптимізації донорно-акцепторних відносин; збільшення ефективності поглинання світлової енергії і перетворення її в біомасу.

Згідно загально визнаної теорії, інтенсивність фотосинтезу визначається активністю ключового фотосинтетичного ферменту РБФКО і / або швидкістю регенерації субстрату первинної реакції – РБФ [28]. Обидва ці фактори розглядаються серед найбільш перспективних для подальшого підвищення фотосинтетичної активності та продуктивності рослин.

РБФКО становить від 30 до 50 % всього розчинного білка в листках  $C_3$ -рослин [18]. Концентрація ферменту в стромі хлоропластів зазвичай дуже висока і, як показують розрахунки, може досягати величин, властивих його кристалчному стану [13]. Вважається, що це пов'язано з низькою ефективністю каталітичної функції РБФКО і неможливістю уникнути оксигеназної реакції в умовах сучасної атмосфери [26].  $K_{кат}$  РБФКО (кількість асимільованого  $CO_2$  на один реакційний центр в секунду) істотно нижче, ніж у більшості інших рослинних ферментів, що вимагає високого вмісту ферменту для забезпечення необхідного рівня асиміляції  $CO_2$ .

Крім зміни вмісту РБФКО в літературі також розглядається потенційна можливість посилення активності асиміляції  $CO_2$  методами генетичної інженерії за рахунок поліпшення кінетичних характеристик РБФКО – підвищення каталітичної ефективності,  $K_{кат}$ , і / або зміни співвідношення швидкостей карбоксилазної і оксигеназної реакцій (фактора специфічності,  $S_{c/o}$ ) [19, 29].

Для отримання РБФКО з поліпшеними кінетичними параметрами використовуються два підходи: 1) пошук форм серед існуючих генотипів (зазвичай видів, що ростуть в екстремальних умовах навколишнього середовища) для подальшої трансформації культурних рослин; 2) спрямований мутагенез генів, що кодуєть малу і велику субодиниці ферменту. Однак в ході досліджень широкого кола фотосинтезуючих організмів від бактерій до вищих рослин виявилось, що величина  $S_{c/o}$  тісно

негативно корелює з  $k_{кат}$ , тобто більшу спорідненість ферменту до  $CO_2$  супроводжується більш низькою питомою активністю [10, 26].

У вищих рослин C3-види мають більшу спорідненість до  $CO_2$ , ніж C4-види, що дозволяє їм мінімізувати оксигеназну активність. Навпаки, C4-види, що забезпечують більшу концентрацію  $CO_2$  для РБФКО, мають більш високу швидкість обороту ферменту  $k_{кат}$ . Разом з тим вдалося виявити види C3-рослин, що мають кілька краще в порівнянні з іншими співвідношення  $S_{c/o}$  й  $k_{кат}$  [11, 32].

Встановлено, що структура великої субодиноці РБФКО дуже консервативна, у вищих рослин різниця в послідовності амінокислот становить не більше 10–20 % [25]. Проте виділені дві ділянки поліпептиду, C-кінець і так звана петля 6, де заміна амінокислотних залишків викликає підвищення фактора специфічності ферменту. Виявилось, що у рослин флаверії заміна всього лише однієї амінокислоти метіоніну в позиції 309 лейцином змінює кінетичні характеристики РБФКО з C3-типу на C4. Однак численні спроби поліпшення структури ферменту за допомогою сайт-спрямованого мутагенезу поки не дали очікуваного результату. Отримані зразки РБФКО по співвідношенню  $S_{c/o}$  й  $k_{кат}$ , як правило, були гірше, ніж природні форми [20, 27, 32].

Хоча РБФКО за своїми кінетичними характеристиками є більш «повільним», ніж інші рослинні ферменти, Черкез і співавт. [26, 27] на основі аналізу структури і функціональних особливостей РБФКО рослин з різним типом метаболізму прийшли до висновку, що природну РБФКО практично неможливо поліпшити. При цьому взаємопов'язані відмінності за величиною  $S_{c/o}$  й  $k_{кат}$  у різних видів є результатом оптимального пристосування фотосинтетичного апарату до конкретних умов зростання. Цікаво відзначити, що комп'ютерне моделювання залежності фотосинтетичної активності посіву від кінетичних характеристик РБФКО показало більш високі величини асиміляції  $CO_2$  для C3-рослин зі зменшеними значеннями  $S_{c/o}$ , а значить більш високим відносним рівнем фотодихання, але з великими значеннями  $k_{кат}$  [32].



Основною продуктивності рослин є поглинання енергії сонячного випромінювання, оскільки головна функція їх фотосинтетичного апарату полягає в перетворенні світлової енергії в хімічну для подальшого її використання в метаболічних процесах. У процесі фотосинтезу рослини використовують енергію квантів сонячного світла в діапазоні довжин хвиль 380–710 нм. Ця частина сонячного спектра носить назву фотосинтетичний активний радіації (ФАР). Частка ФАР становить приблизно половину всього сонячного потоку (від 48 до 52 %) і мало залежить від метеорологічних умов і місця розташування [1, 12, 16].

Підвищення врожайності пшениці в другій половині ХХ ст. було пов'язано зі збільшенням частки господарсько-цінної частини врожаю в загальній біомасі рослини і ефективності поглинання сонячної радіації посівами [5, 6, 24]. Останнє було досягнуто збільшенням тривалості функціонування асиміляційного апарату: оптимізацією листового індексу посівів на початку вегетації, подовженням тривалості життя листя і збереженням високого вмісту хлорофілу в них в період наливу зерна, а також змінами в архітектоніці рослин [6, 7].

Оскільки поглинання енергії ФАР посівами зараз вже досягло максимальних значень – до 90 % можливого – подальше його збільшення мало ймовірно [12, 30]. У зв'язку з цим серед дослідників превалює думка про те, що однією з решти можливостей, за допомогою якої можна збільшити продуктивність агрофітоценозів, є підвищення ефективності перетворення енергії в рослинну біомасу [6, 7, 14, 24, 31].

Ефективність використання радіації (ЕІР) або перетворення поглинутої сонячної енергії в біомасу оцінюють по відношенню приросту біомаси за певний період до величини ФАР за цей же проміжок часу [17, 8].

## РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

### 2.1. Об'єкти дослідження

Як об'єкт дослідження використовували рослини м'якої озимої пшениці (*Triticum aestivum* L) сортів Смуглянка, Антонівка, Подолянка, що відрізняються за продуктивністю.

Характеристика препарату Фіто-М. Препарат має спрямовану дію проти збудників хвороб сільськогосподарських культур. Розкладає стерню.

Склад препарату: Конідії штаму *Trichoderma lignorum* (титр не менше  $1 \times 10^8$  КУО/мл).

Препаративна форма: Рідина від світло-коричневого до темно-коричневого кольору.

Клас небезпеки: III (помірно небезпечний).

Період захисної дії: Після обробки насіння препарат Фіто-М діє на коренях рослин протягом всього періоду вегетації. На стеблах і листках рослин біопрепарат діє протягом 10–15 діб, в залежності від ступеня інфікованості і погодних умов

Сумісність: Сумісний в бакових сумішах з більшістю пестицидів.

Однак, можливо прояв фізико-хімічну несумісність препаратів, тому рекомендується перед змішуванням і застосуванням провести тест на сумісність

Умови та термін зберігання: Препарат зберігати в упаковці підприємства-виробника в сухих, чистих, вентильованих, захищених від впливу прямих сонячних променів і атмосферних опадів приміщеннях при температурі від +50 до +150С протягом 10 місяців з дня виготовлення. Після відкриття препарат можна використовувати протягом 7 діб. Робочий розчин використовувати протягом 24 годин після приготування

Механізм дії:

Механізм дії цього препарату обумовлений здатністю гриба:

НУВБІП УКРАЇНИ

колонізувати максимально можливий життєвий простір і поглинати максимальну кількість відповідних поживних речовин, в міснях свого застосування. Створюючи, таким чином, несприятливі умови для фітопатогенних організмів;

НУВБІП УКРАЇНИ

атакувати збудників захворювань рослин перш, ніж ті досягнуть кореневої системи сільськогосподарських культур. Гриб зі складу препарату здатний швидко рости і обплутує своїми гіфами міцелій фітопатогена, проникаючи всередину і витягуючи поживні речовини. В кінцевому підсумку фітопатогени гине і виключається з даного агробіоценозу.

НУВБІП УКРАЇНИ

Переваги застосування:  
Широкий спектр активності проти грибних і бактеріальних фітопатогенів.

Рістрегулюючі і імуностимулюючі активність.

НУВБІП УКРАЇНИ

Скорочення кратності обробок хімічними фунгіцидами.  
Ефективний в холодну (весна, осінь) пору року.  
Термін очікування відсутній. Плоди, оброблені препаратом, готові до вживання.

Конідії штаму здатні розвиватися в широкому діапазоні рН ґрунту.

Не викликає резистентності фітопатогенів.

## 2.2. Отримання стерильних рослин пшениці *in vitro*

Насіння пшениці сортів Смуглянка, Антонівка, Подолянка, що поміщаються на живильне середовище, легко уражаються мікроорганізмами. Тому попередньо проводили поверхневу стерилізацію насіння.

Для поверхневої стерилізації насіння пшениці сортів Смуглянка, Антонівка, Подолянка використовували 5 %-ний розчин гіпохлориту Na.

Потім експлантати промивали 3 рази по 10 хв в стерильній дистильованій воді і в стерильних умовах в ламінар-боксі насіння поміщали на живильне середовище МС (таб. 2.1) з додаванням біопрепарату Фіто-М. В нашому

випадку використання білизни виявилось прийнятним, так як відсоток зараження становив 1 %.

Таблиця 2.1.

№	Компоненти	Кількість речовини
Маточний розчин макросолей (г на 1 л маточного розчину)		
1	$\text{KNO}_3$	1,9
2	$\text{NH}_4\text{NO}_3$	1,65
3	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	0,17
4	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,37
5	$\text{CaCl}_2$ безводний	0,44
Маточний розчин мікросолей (мг на 1 л маточного розчину)		
6	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,25
7	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,025
8	$\text{H}_3\text{BO}_3$	6,2
9	$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22,3
10	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8,6
11	KJ	0,83
12	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	2,5
Вітаміни		
13	Нікотинова кислота	1
14	Тіамін HCl	1
15	Піридоксин HCl	1
16	Fe-хелат	5
17	Мезоінозит	100 мг/л
18	Сахароза	30

Потім в стерильних умовах ламінар-боксу експлантати переносили на живильне середовище і вирощували в умовах світлокультури при температурі 25-26 °С, освітленістью 5 тис. лк при 16-годинному фотоперіоді і за природнього освітлення.

Частину насіння замочували на 24 год в культуральних фільтратах гриба *Fusarium* spp. Контролем служив варіант, де насіння не були оброблені даними мікроскопічними грибами.

### 2.3. Методика визначення біометричних показників

Рослини вирощували при природному освітленні (фотоперіод 16-17 год), середній рівень опромінення 300 мкмоль фотонів м<sup>2</sup> с<sup>-1</sup>, відносна вологість повітря 75±2 %; температура повітря 25±2 °С. Для поливу використовували відстояну водопровідну воду, підтримуючи відносну вологість ґрунту на рівні 60 %.

На 30-ту добу вирощування рослини сформували 3-4 листки.

Схожість насіння визначали по GOST 12038-84 (2011). Сирю і суху масу цілої рослини, довжину надземної частини і головного кореня визначали на 10 і 30-ту добу. Площа листової пластинки визначали методом розрахункового коефіцієнта, характерного для злакових рослин (Усманов і ін., 2001). Площу листя вимірювали за допомогою програми Image-T 1.43 на основі відсканованого зображення. Відносні зміни фізіологічних показників розраховували згідно з формулою:  $(O - K) / K$ , де O – значення в досвіді, K – значення в контролі.

### 2.4. Методика визначення вмісту хлорофілу

Листя (в кожному варіанті об'єднували) фрагментували і ретельно перемішували. Наважку від 80 до 100 мг переносили в пробірку, додавали 10 мл 96 % -го етилового спирту, нагрівали при 70 °С протягом 30 хв. Повна екстракція пігментів проходила в темряві при 4 °С протягом 12-14 год. Оптичну щільність визначали за допомогою спектрофотометра Spocol-1300

(Germany). Концентрацію хлорофілів (мкг/мл) розраховували по (Wenters, DeMots, 1965):

$$C_a = 13,7 \times (D_{665} - D_{720}) - 5,76 \times (D_{649} - D_{720});$$

$$C_b = 25,8 \times (D_{649} - D_{720}) - 7,6 \times (D_{665} - D_{720}).$$

Вміст пігментів виражали в  $\text{мг} \times \text{г}^{-1}$  сирової маси. Частку хлорофілів (a + b) в складі світлозбиральних комплексів (ССК) розраховували по Lichtenthaler (1987):

$$\text{ССК} = (1,2 \times C_b + C_a) / (C_a + C_b),$$

вважаючи, що весь хлорофіл b входить до складу ССК і відношення хлорофілів a/b в ССК лежить в інтервалі 1.1–1.3.

Фотосинтетичну активність листя визначали на 30-ту добу на основі показників швидкої флуоресценції хлорофілу. Використовували флуориметр

JUNIOR-PAM (Walz, Effeitrich, Germany) і програму WinControl-3 в режимах

запису "Світлова крива" і "Індукція". Світлову криву реєстрували в діапазоні

$(66-828) \times 10^{-6}$  М фотонів  $\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$ , індукційну криву – при світловому опроміненні  $420 \times 10^{-6}$  М фотонів  $\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$ . Максимальний квантовий вихід ФС2

[Y (II) m] розраховували на основі нульового F0 і максимального Fm рівнів

(Kitajima, Butler, 1975):  $Y (II) m = (Fm - F0) / Fm$ .

## 2.5. Визначення сумарних вуглеводів методом Дюбуа

Кількість вуглеводів визначали в етанольних екстрактах модифікованим методом Дюбуа [34].

Наважку рослинного матеріалу подрібнювали, фіксували 96 % спиртом (десятикратним кількістю). Фіксований матеріал ретельно розтирали в ступці і екстрагували з нього цукор 5 мл 80 % етанолу, нагрітого до 70 °С. Екстракт

разом з рослинними залишками поміщали в центрифужні пробірки і центрифугували протягом 5 хв при 5000 об/хв. Надосадову рідину зливали в

мірну колбу на 25 мл, так щоб не потрапили рослинні залишки. До осадку, який залишився в центрифужних склянках, доливали 5 мл 80 % етанолу

(нагрітого), ретельно перемішували і знову центрифугували. Дану операцію повторювали 5–6 разів, до повного вилучення цукрів і доведення до мітки.

Брали витяжку цукру (1 мл) і розбавляли 1 мл спирту (80 % нагрітого).

З отриманого співвідношення вливали в пробірку 1 мл 5 % фенолу (свіжоприготованого). І обережно в центр пробірки доливали 2 мл  $H_2SO_4$  концентрованої. Через 30 хвилин визначали оптичну щільність при 440 нм.

Вміст цукрів розраховується за заздалегідь побудованими калібрувальними кривими, для яких використовують стандартні розчини цукрів. Калібрувальна крива складається з суміші глюкози, фруктози і сахарози в співвідношенні 1:1:1.

## 2.6. Виділення сумарних білків

Для виділення всіх білкових речовин використовували лужні розчини, в яких більшість білків досить добре розчиняються.

Для вилучення білків зі свіжого рослинного матеріалу наважку листя, стебел заморозували в холодильнику (1 доба). Потім подрібнювали в гомогенізаторі або розтирали з чотириразовим (по масі) кількістю буфера (pH=10,0). Гомогенат заморозували в холодильнику, і, після розтавання, струшували на механічній мішалці протягом 1-2 годин, потім центрифугували протягом 5-10 хвилин при 3000 об/хв. Рідину над осадом зливали, а залишки клітин знову гомогенізували або розтирали в ступці з прожареним піском. Потім гомогенат знову струшували з буферним розчином протягом 20-30 хвилин і знову центрифугували. Таку екстракцію проводили 5-6 разів. Загальний обсяг екстракту доводили буферним розчином до 25 мл [7].

Боратний буфер (pH = 10,0):

Розчин 5: NaOH 0,1N

Розчин 8: тетраборат Na 0,05M (12,367 г  $H_2BO_3$  + 100 мл 1N розчину NaOH в 1 л). 41 мл розчину 5 доводили до 100 мл розчином 8.

Визначення вмісту білка по біуретовій реакції [10].

Біуретового реактиву: розчиняли в 250 мл води 075 г  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  і 3 г виннокислого натрію-калію ( $\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ), потім при енергійному помішуванні додавали 150 мл 10% -го розчину  $\text{NaOH}$ , вільного від  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , і

1 г  $\text{KI}$  для запобігання самовільного відновлення; обсяг розчину довели водою до 1 л.

До 1 мл досліджуваного розчину, що містить 1-10 мг білка, додавали 4 мл біуретового реактиву, перемішували і залишали стояти 30 хвилин при кімнатній температурі. Після закінчення часу колориметрували при  $\lambda = 540$

нм проти води. Вміст білка розраховували по калібрувальній кривій,

складеної для альбуміну: в серію пробірок вливали 0,1; 0,25; 0,5; 0,75 і 1,0 мл 1% -го водного розчину яєчного альбуміну, що містить від 1 до 10 мг білка,

доводили обсяг розчину дистильованою водою до 1 мл, перемішували,

додавали в кожен пробірку по 4 мл біуретового реактиву, перемішували і через 30 хвилин колориметрували.

## 2.7. Визначення антагоністичної активності штамів *Trichoderma*

Наявність антагоністичної активності у *T. harzianum*, *T. lignorum*, *T. longibrachiatum*, *S. lateritius* та *B. amyloliquefaciens* по відношенню до

фітопатогенних грибів роду *Fusarium* визначали класичним методом подвійних (зустрічних) культур [10-13]. Для цього в центр чашки Петрі з картопляно-сахарозним агаром (КСА) поміщали агаризований блок (18 мм) із

попередньо вирощеним грибним фітопатогеном. Навколо блоку

бактеріологічного петлею з суспензією антагоніста проводили коло

діаметром 6 см (імсвірна зона для росту фітопатогену) і інкубували протягом

72 год при температурі 22°C. Контролем служили чашки із блоком

фітопатогену у центрі без антагоніста [13]. Ступінь інгібування (CI) росту

патогену підраховували за такою формулою [12-13]:

$$CI = (1 - (A/B)) \times 100,$$

де А – діаметр колонії фітопатогенного гриба у досліді, мм; В – діаметр



НУБІП УКРАЇНИ  
колонії фітопатогенного гриба у контролі, мм. Реєстрацію результатів проводили на 5-ту, 10-ту добу після початку експерименту. Візуально відзначали характер росту антагоніста та зміну кольору, щільності та товщини колоній фітопатогену [13].

НУБІП УКРАЇНИ  
Літичну активність антагоністів визначали за допомогою експрестестів: наявність ліпази – на жовтковому агарі, хітінази – на синтетичному середовищі з хітином, протеїнази – на молочному агарі. Про здатність антагоніста продукувати екзофермент судили за наявності маслянистого перламутрового шару над та навколо колонії (2-тижневої) (тест на ліпазу);

НУБІП УКРАЇНИ  
утворенню зони просвітлення навколо колонії (тест на хітіназу та протеїназу) [13].

НУБІП УКРАЇНИ

НУБІП УКРАЇНИ

НУБІП УКРАЇНИ

НУБІП УКРАЇНИ

# РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

## 3.1. Вплив *Trichoderma lignorum* на енергію проростання і схожість рослин пшениці

Встановлено, що в умовах природного освітлення за пророщування насіння на середовищі з спорами *T. lignorum* збільшувало енергію проростання і схожість від 5 до 14% в залежності від сорту (рис. 3.1).

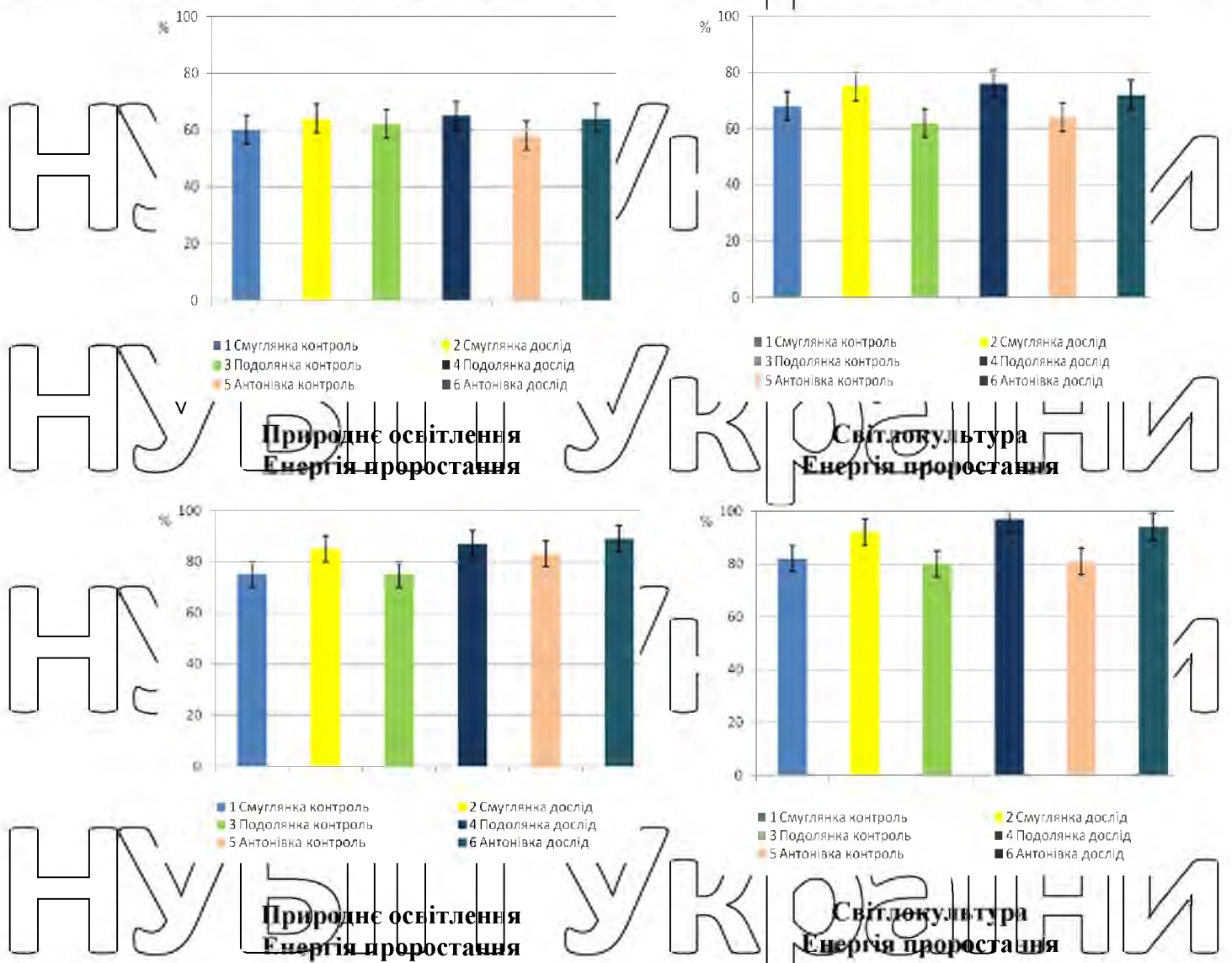


Рис. 3.1. Вплив гриба *Trichoderma lignorum* на енергію проростання і схожість рослин пшениці, в залежності від умов вирощування.

Примітка: контроль – рослини, насіння яких необроблені спорами гриба *T. lignorum*; дослід – рослини, насіння яких оброблені спорами гриба *T. lignorum*.

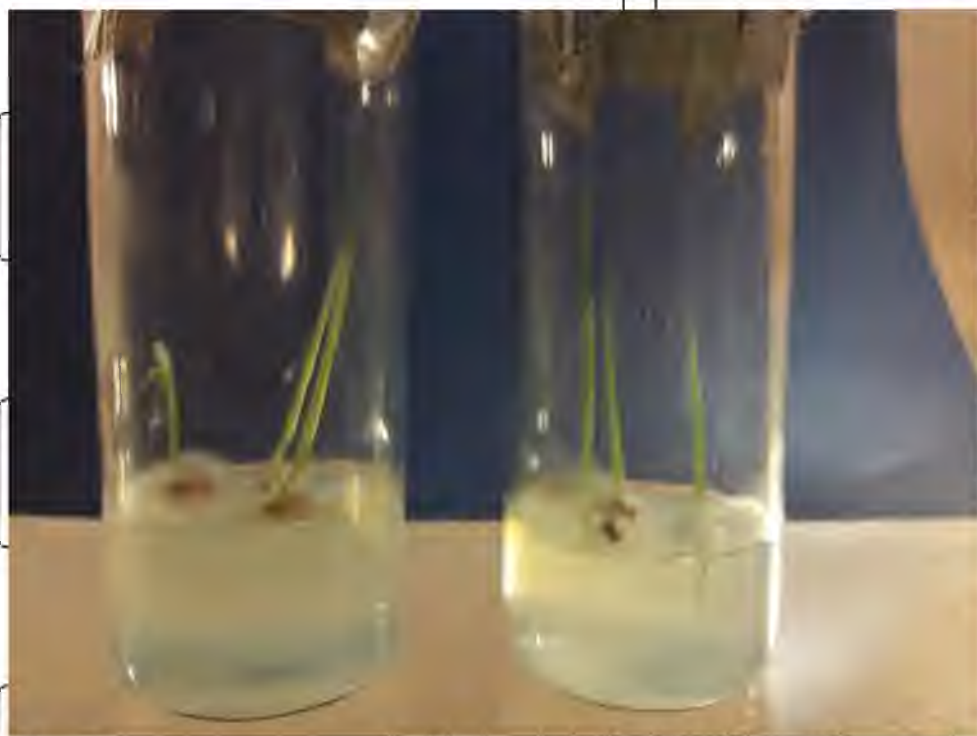


Рис. 3.2. Вплив біопрепарата Фітс-М на енергію проростання і схожість рослин пшениці.

Аналогічну дію *T. lignorum* відмітили в умовах світлокультури. Найбільший стимулюючий ефект спостерігався у рослин потенційно високоврожайного сорту Подільнка.

### 3.2. Вплив грибів *Trichoderma lignorum* на фізіолого-морфологічні параметри рослин пшениці

У процесі онтогенезу рослини піддаються впливу різних стресових факторів навколишнього середовища, до яких відносяться світло, температура повітря та ґрунту, вода в ґрунті і атмосфері, рух повітря, димові гази, засолення ґрунтових вод, природна і штучна радіація. Вони впливають на ростові процеси рослин, їх продуктивність і якість продукції.

Однак поряд з факторами зовнішнього середовища великий вплив на розвиток рослинного організму надає мікрофлора ґрунту. Накопичені до теперішнього часу дані свідчать про те, що в природних умовах вищі рослини завжди колонізовані мікроорганізмами, причому останні відіграють активну роль в адаптації рослин до середовища проживання [3; 9-10; 18].

Одним з поширених компонентів мікрофлори в ризосфері рослин є гриби роду *Trichoderma*. Вони володіють розвинутою системою ферментативного апарату, завдяки якому забезпечується їх висока приживлюваність і конкурентоспроможність [16].

Гриби роду *Trichoderma* є поліантагоністами, здатними в природних умовах пригнічувати розвиток багатьох патогенних мікроорганізмів, що мешкають в кореневій зоні рослин [1], крім того, вони мають здатність впливати на шкідливі організми через стимулювання захисних властивостей рослин [9; 17].

Вони також можуть надавати позитивний вплив на ростові процеси рослин і впливати на їх продуктивність [4; 6; 16]; здатні синтезувати фізіологічно активні речовини, які впливають на біохімічні процеси, що протікають в рослинах. Так, внесення грибів цього роду в ризосферу значно активізують багато ферментів рослин – інвертазу, каталазу, амілазу, уреазу, що, в свою чергу, збільшує інтенсивність окислювально-відновних процесів, фотосинтез і поглинання поживних елементів кореневою системою [12]. Усе це впливає не тільки на рівень врожайності сільськогосподарських культур, а



й на якісні характеристики продукції, збільшуючи вміст білків, незамінних амінокислот і вітамінів [2].

При дослідженні впливу грибів *T. lignorum* на ростові процеси досліджуваних рослин пшениці на всіх термінах вегетації було відзначено

його стимулюючий вплив на довжину надземної частини і кореневої системи.

Найбільший ефект був відзначений через десять днів (рис. 3.2)

Гриби *T. lignorum* сприяли не тільки лінійному росту, але і надавали вплив на продуктивність рослин, що включає накопичення біомаси.

Результати досліджень показали, що в умовах природного освітлення гриби

*T. lignorum* надали достовірно позитивний вплив на накопичення сирової біомаси рослиною (табл. 3.1). Збільшення вмісту сирової біомаси в

досліджуваних рослинах могло бути пов'язане як зі збільшенням вмісту води

в тканинах, так і з накопиченням в них сухої речовини. Дані щодо наявності

води в рослинах показали, що обводнення рослин, насіння яких були

оброблені спорами гриба *T. lignorum* менше, ніж обводнення необроблених рослин (табл. 3.1). Отже, продукти життєдіяльності *Trichoderma lignorum*

надавали стимулюючий вплив на накопичення біомаси рослинами пшениці

за рахунок накопичення в них сухої речовини.

Даний факт підтверджується результатами по накопиченню сухої біомаси рослинами (табл. 3.1). Максимальне збільшення сухої біомаси

спостерігалось у рослин в дослідних варіантах. Найбільш ефективна дія

гриба-антагоніста проявилось на рослинах сорту Подолянка; так приріст

сухої біомаси з 10 по 30 добу у рослин цього сорту в 2 рази перевищив цей показник у контрольного варіанту.

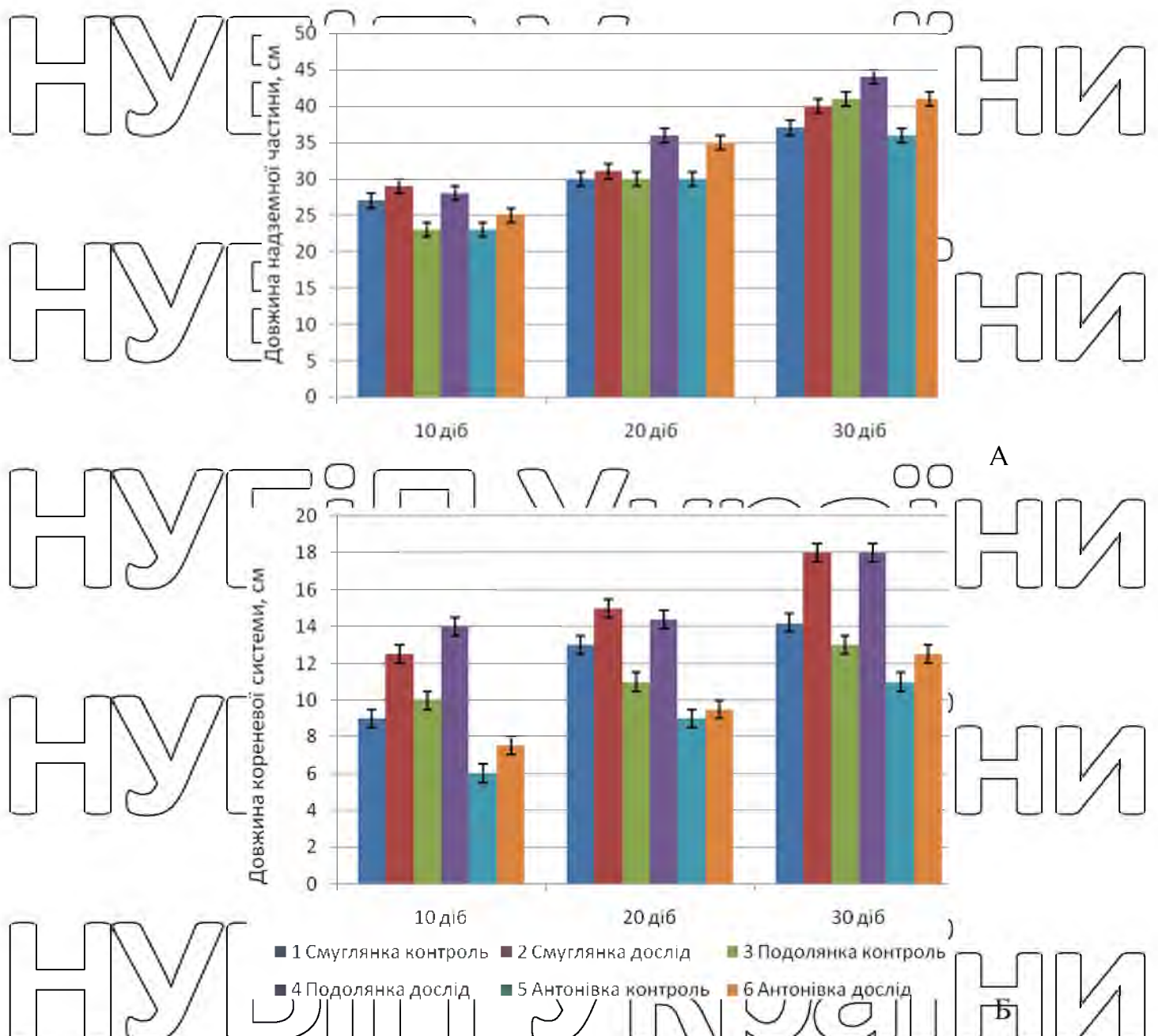


Рис. 3.3. Вплив гриба *Trichoderma lignorum* на довжину надземної частини (А) і кореневої системи (Б) рослин пшениці, вирощених в умовах природного освітлення.

Примітка: контроль – рослини, насіння яких необроблені спорами гриба *T. lignorum*; дослід – рослини, насіння яких оброблені спорами гриба *T. lignorum*.

# НУБІП УКРАЇНИ

Таблиця 3.1

Вплив грибів *Trichoderma lignorum* на фізіолого-морфологічні параметри рослин пшениці, вирощених в умовах природного освітлення.

Діб	Варіант досліду	Кількість листків	Вміст води, %	Сира біомаса, мг	Суха біомаса, мг
10	Рослини, насіння яких не оброблене грибом <i>Trichoderma lignorum</i>				
	Смуглянка	2 ± 0,0	85 ± 0,2	300,1 ± 11	31,4 ± 2,4
	Подольанка	2 ± 0,0	87 ± 0,2	295,4 ± 6	29,7 ± 2,2
	Антонівка	2 ± 0,0	88 ± 0,2	214,7 ± 8	19,2 ± 1,4
	Рослини, насіння яких оброблене грибом <i>Trichoderma lignorum</i>				
	Смуглянка	2 ± 0,0	84 ± 0,2	352,4 ± 16	48,4 ± 2,6
	Подольанка	2 ± 0,0	83 ± 0,5	310,5 ± 14	51,2 ± 2,0
20	Рослини, насіння яких не оброблене грибом <i>Trichoderma lignorum</i>				
	Смуглянка	4 ± 0,0	85 ± 0,4	525,2 ± 28	53,4 ± 2,4
	Подольанка	4 ± 0,0	85 ± 0,6	546,4 ± 22	61,2 ± 2,2
	Антонівка	2 ± 0,0	88 ± 0,2	425,2 ± 22	40,2 ± 1,6
	Рослини, насіння яких оброблене грибом <i>Trichoderma lignorum</i>				
	Смуглянка	4 ± 0,0	84 ± 0,6	602,3 ± 22	73,3 ± 2,6
	Подольанка	4 ± 0,0	84 ± 0,6	635,5 ± 24	77,4 ± 2,4
30	Рослини, насіння яких не оброблене грибом <i>Trichoderma lignorum</i>				
	Смуглянка	5 ± 0,0	85 ± 0,4	945,2 ± 22	113,3 ± 2,6
	Подольанка	5 ± 0,0	82 ± 0,2	955,3 ± 24	147,4 ± 2,4
	Антонівка	5 ± 0,0	86 ± 0,2	905,6 ± 24	98,5 ± 1,3
	Рослини, насіння яких оброблене грибом <i>Trichoderma lignorum</i>				
	Смуглянка	6 ± 0,0	83 ± 0,2	985,2 ± 24	164,3 ± 2,4
	Подольанка	6 ± 0,0	77 ± 0,4	995,3 ± 26	247,4 ± 2,8
	Антонівка	6 ± 0,0	82 ± 0,6	995,6 ± 26	128,5 ± 2,6

Аналогічну стимулюючу дію грибів *Trichoderma lignorum* спостерігали в умовах світлокультури. Збільшувалася довжина надземної частини, кореневої системи, накопичення сирої і сухої біомаси. Слід зазначити, що в

даних умовах вирощування значення досліджуваних показників і ступінь ефективності грибів були вище, ніж в умовах природного освітлення.

Визначено дію антагоністично активного гриба *Trichoderma lignorum* на фізіолого-морфологічні параметри рослини пшениці, заражених фітопатогенним грибом *Fusarium* spp. Дослідження показали, що *Fusarium* spp. знижував енергію проростання і схожість рослин; надавав інгібуючий

вплив на всі фізіолого-морфологічні параметри. Даний факт узгоджується з

даними літератури [33, 34]. Водночас обробка грибом *Trichoderma lignorum* знімала інгібуючу дію *Fusarium* spp. на ростові процеси рослин і надавала

стимулюючий вплив на рослину вже на ранніх етапах розвитку (табл. 3.2).

Таблиця 3.2.

Фізіолого-морфологічні параметри рослин пшениці під дією мікроміцетів

Діб	Варіант досліджу	Довжина надземної частини, см	Довжина кореневої системи, см	Сира біомаса, мг	Суша біомаса, мг
10	1	21,6 ± 1,2	4,2 ± 0,5	233 ± 8	18 ± 1,2
	2	15,2 ± 1,4	2,5 ± 0,4	118 ± 8	17 ± 1,2
	3	20,1 ± 1,1	4,7 ± 0,4	196 ± 12	18 ± 1,1
20	1	28,1 ± 1,2	8,1 ± 0,5	385 ± 12	38 ± 1,4
	2	18,3 ± 2,1	5,5 ± 0,3	254 ± 8	29 ± 1,4
	3	27,3 ± 2,1	6,4 ± 0,5	326 ± 8	37 ± 1,2
30	1	34,7 ± 1,4	10,2 ± 0,4	794 ± 25	86 ± 1,4
	2	27,1 ± 1,4	5,7 ± 0,4	515 ± 20	48 ± 1,1
	3	34,8 ± 1,2	8,8 ± 0,6	732 ± 18	67 ± 2,3

Примітка: I – рослини, необроблені мікроорганізмами (контроль); II – рослини, насіння яких оброблене метаболітами *Fusarium* spp.; III – рослини, які зазнали спільної обробітки мікроскопічними грибами (*T. lignorum* + *Fusarium* spp.).



Можна вважати встановленим, що гриб *Trichoderma lignorum* позитивно впливав на ростові процеси пшениці, незалежно від сортової приналежності рослин. Досліджувані рослини були більше за величиною, вмістом сирової і сухої речовини. Крім того, як показали дослідження, *Trichoderma lignorum* сприяв більш швидкому проходженню фаз розвитку, досягаючи цвітіння в більш короткі терміни, коли подовження вегетативної частини практично припиняється. Так початок цвітіння спостерігалось вперше в дослідних варіантах, а лише потім в контрольному варіанті. Однак слід зазначити той факт, що в умовах світлокультури дія даного мікроорганізму була більш ефективною.

### **3.3. Зміна площі листкової поверхні у рослин пшениці під дією грибів *Trichoderma lignorum***

Гриби *Trichoderma lignorum* сприяли збільшенню листків на рослині (табл. 3.1). Вони впливали на розвиток асиміляційного апарату рослин, про що свідчило збільшення площі листя на рослині, в порівнянні з контролем, незалежно від умов вирощування (рис. 3.3). Так, у рослин, вирощених в умовах світлокультури, найбільший ефект був відзначений на 20 добу: під дією *Trichoderma lignorum* площа листя перевищувала контроль в 1,2–1,8 рази залежно від сорту. Найбільш ефективна дія обробки насіння спорами гриба *Trichoderma lignorum* проявилася на рослинах пшениці сорту Подолянка.

Таким чином, за рахунок дії *Trichoderma lignorum* рослини пшениці формували велику листкову поверхню, що створювало умови для збільшення фотоасиміляційної діяльності рослин, що на думку Межунц Б.Х. і ін. має проявитися в збільшенні загальної продуктивності [35].

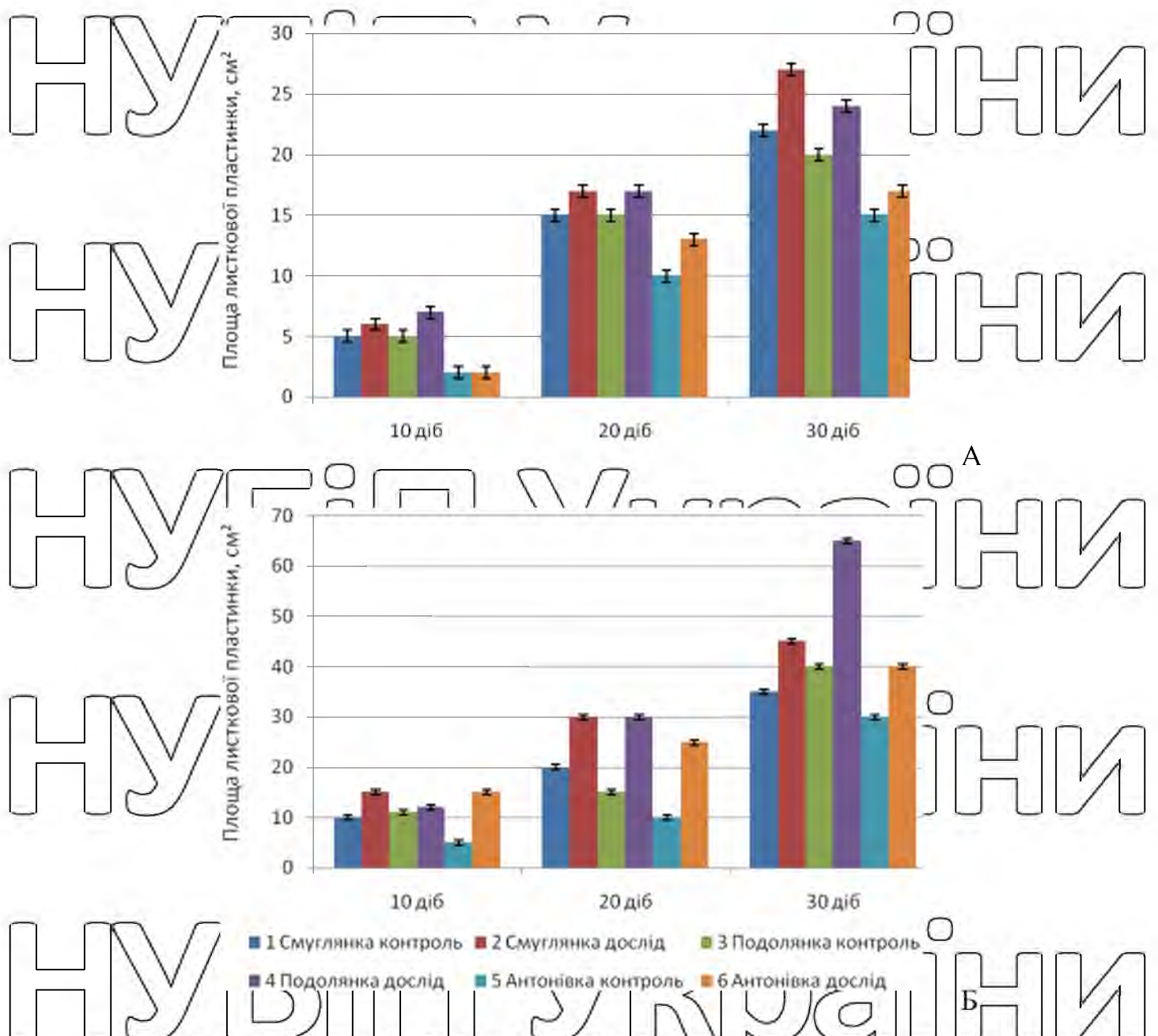


Рис. 3.4. Вплив гриба *Trichoderma lignorum* на площу листової пластинки рослин пшениці, вирощених в умовах природного освітлення (А) і світлокультури (Б).

Примітка: Контроль – рослини, насіння яких не оброблене спорами гриба *Trichoderma lignorum*; дослід – рослини, насіння яких оброблене спорами гриба *Trichoderma lignorum*.

### 3.4. Зміна вмісту хлорофілу а і б в листках рослин пшениці під дією грибів *Trichoderma lignorum*

Мікроорганізми, які інфікують ризосферу, знаходяться в тісній взаємодії з рослинами і спричиняють істотний вплив на їх ріст і розвиток.

Одні – продуценти різноманітних фітотоксинів – повністю пригнічують і затримують ріст рослин, інші забезпечують рослини необхідними елементами живлення і регуляторами росту, а також захищають від патогенних мікроорганізмів і підвищують стійкість до стрес-чинників [65; 78;

75; 76; 67 45]. Серед ґрунтових мікроорганізмів особливе місце займають

гриби роду *Trichoderma* [70]. Вперше рід *Trichoderma* був запропонований Персоном в 1794 р. [71]. В даний час в складі роду *Trichoderma* відомо більше 200 видів. Більшість з них визначені на початку ХХІ ст. R. Weindling

(1932) першим вказав на потенційну здатність *Trichoderma* виступати ефективним агентом біоконтролю хвороб рослин.

Вивчення антагоністичних властивостей і особливо вибіркової дії специфічних речовин, що виділяються грибами роду *Trichoderma*, становить інтерес у зв'язку з з'ясуванням характеру взаємнн з мікроорганізмами, впливу

*Trichoderma* на окремих представників мікрофлори, а також для використання в боротьбі з різними фітопатогенними організмами

Можливість застосування різних органічних субстратів з високим виходом біомаси гриба виправдовує застосування *Trichoderma* в біотехнологічних процесах.

Гриби роду *Trichoderma* проявляють антагонізм за рахунок здатності:

1) витіснити повільно зростаючі мікроорганізми за рахунок швидкого освоєння субстрату, 2) виявляти гіперпаразитичну активність, 3) продукувати антибіотичні речовини [36]. *Trichoderma* також стимулює процеси росту і

збільшує продуктивність культурних рослин і їх стійкість до стресових чинників [79; 50; 75; 76; 67].

Важливою якістю певних штамів *Trichoderma* є висока антагоністична активність щодо фітопатогенних грибів роду *Fusarium*, які викликають

інфекційне захворювання (фузаріози) культурних рослин і значно знижують їх врожайність [56; 48; 64; 74]. Представники *Fusarium* spp. синтезують широкий спектр біологічно активних речовин, включаючи групу мікотоксинів (Т-2, НТ-2, діацетоксисцирпенол, зеараленон, енніатини), які здатні накопичуватися в зерні та продуктах, викликаючи інтоксикацію у людини, сільськогосподарських тварин і птахів. Найбільшу небезпеку становить Т-2 фузаріотоксин з групи трихотещенів, який пригнічує синтез нуклеїнових кислот і викликає клітинний апоптоз [39; 48].

Розглядають два механізми дії грибів роду *Fusarium*: 1) взаємодія спор з клітинами кореня, їх проростання і блокування обмінних процесів рослин [68] і 2) негативний вплив метаболітів *F. oxysporum* на накопичення біомаси, фотосинтез та утримання зелених пігментів [77]. Захворювання, викликане *Fusarium*, зачіпає фотосинтетичний транспорт електронів в тилакоїди, Цикл Кальвіна, провідність продохів для  $CO_2$  [72]. Однак дані про вплив *Fusarium* на фотосинтетичну активність рослин не дозволяють встановити, який з перерахованих вище процесів найбільш чутливий до цього патогену. Найбільш активним антагоністом *Fusarium* є штами *Trichoderma* [45]. Стимуляція росту рослин, що спостерігається при взаємодії з *Trichoderma*, не вивчена з позицій концепції ендогенної регуляції. Недостатньо експериментальних даних про вплив метаболітів *Fusarium* на процеси фотосинтезу. Відсутні дані про спільну дію *Trichoderma* і метаболітів *Fusarium* на ростові процеси і фотосинтез.

Показано, що незалежно від умов вирощування на всіх термінах вегетації у рослин під дією *Trichoderma lignorum*, вміст хлорофілу в розрахунку на сиру масу був більший, ніж у рослин, що не піддавалися обробці (табл. 3.3, 3.4). В умовах природного освітлення у 10-ти добових рослин пшениці вміст хлорофілу а збільшилася від 45 до 73 % залежно від сорту, кількість хлорофілу b – від 21 до 82 %, в порівнянні з контролем (табл. 3.3, 3.4).

# НУБІП УКРАЇНИ

Вплив грибів *Trichoderma lignorum* на вміст зелених пігментів в рослинах пшениці

Таблиця 3.3

Доба	Варіант	Вміст фотосинтетичних пігментів, мг/г сирової маси				
		Природне освітлення				
		Хлорофіл а	Хлорофіл b	Хлорофіл а+b	Відношення хлорофіл а/б	
10	Сорт Смуглянка					
	Контроль	1,08±0,02	0,53±0,01	1,61±0,02	2,04±0,02	
	Дослід	1,96±0,02	0,69±0,02	2,65±0,02	2,84±0,02	
	Сорт Антонівка					
	Контроль	0,73±0,02	0,31±0,02	1,04±0,02	2,35±0,02	
	Дослід	1,13±0,03	0,59±0,03	1,91±0,03	1,92±0,03	
	Сорт Подолянка					
	Контроль	1,14±0,03	0,58±0,02	1,72±0,02	1,96±0,03	
	Дослід	1,99±0,02	0,97±0,03	2,96±0,03	2,05±0,02	
	20	Сорт Смуглянка				
		Контроль	1,70±0,01	0,71±0,02	2,41±0,03	2,39±0,02
		Дослід	2,14±0,03	1,00±0,03	3,14±0,02	2,14±0,02
Сорт Антонівка						
Контроль		1,03±0,01	0,71±0,03	1,74±0,03	1,45±0,01	
Дослід		1,40±0,01	0,91±0,03	2,31±0,03	1,54±0,02	
Сорт Подолянка						
Контроль		1,44±0,02	0,85±0,02	2,29±0,02	1,69±0,03	
Дослід		1,81±0,02	1,21±0,03	3,02±0,02	1,49±0,03	
30		Сорт Смуглянка				
		Контроль	3,16±0,03	0,93±0,03	4,09±0,03	3,40±0,04
		Дослід	3,82±0,03	1,13±0,02	4,95±0,02	3,38±0,03
	Сорт Антонівка					
	Контроль	2,41±0,04	0,87±0,02	3,28±0,03	2,77±0,04	
	Дослід	2,96±0,03	1,00±0,02	3,96±0,04	2,96±0,03	
	Сорт Подолянка					
	Контроль	2,98±0,04	0,99±0,03	3,97±0,03	3,01±0,04	
	Дослід	3,85±0,04	1,05±0,03	4,90±0,04	3,67±0,03	

# НУБІП УКРАЇНИ

Вплив грибів *Trichoderma lignorum* на вміст зелених пігментів в рослинах пшениці

Таблиця 3.4

Доба	Варіант	Вміст фотосинтетичних пігментів, мг/г сирової маси				
		Світлокультура				
		Хлорофіл а	Хлорофіл b	Хлорофіл а+b	Відношення хлорофіл а/б	
10	Сорт Смуглянка					
	Контроль	1,43±0,01	0,60±0,03	2,03±0,03	2,38±0,01	
	Дослід	2,25±0,02	0,91±0,01	3,16±0,02	2,47±0,01	
	Сорт Антонівка					
	Контроль	0,81±0,03	0,30±0,02	1,11±0,01	2,70±0,03	
	Дослід	1,29±0,01	0,62±0,03	1,91±0,03	2,08±0,01	
	Сорт Подолянка					
	Контроль	1,26±0,03	0,66±0,03	1,92±0,03	1,91±0,02	
	Дослід	2,15±0,01	1,05±0,03	3,2±0,02	2,05±0,03	
	20	Сорт Смуглянка				
		Контроль	1,89±0,03	0,81±0,01	2,70±0,03	2,33±0,02
		Дослід	2,73±0,02	1,37±0,03	4,10±0,02	1,99±0,02
Сорт Антонівка						
Контроль		1,15±0,02	0,73±0,03	1,88±0,03	1,57±0,02	
Дослід		1,55±0,01	0,95±0,03	2,50±0,02	1,63±0,03	
Сорт Подолянка						
Контроль		1,72±0,01	0,86±0,02	2,58±0,01	2,00±0,02	
Дослід		2,98±0,01	1,33±0,03	4,31±0,03	2,24±0,01	
30		Сорт Смуглянка				
		Контроль	3,79±0,03	1,19±0,03	4,98±0,03	3,18±0,03
		Дослід	4,55±0,03	1,53±0,02	6,08±0,02	2,97±0,02
	Сорт Антонівка					
	Контроль	3,21±0,03	0,92±0,03	4,13±0,03	3,49±0,02	
	Дослід	3,75±0,01	1,31±0,01	5,06±0,02	2,86±0,03	
	Сорт Подолянка					
	Контроль	3,29±0,03	1,15±0,01	4,44±0,01	2,86±0,02	
	Дослід	4,35±0,02	1,57±0,03	5,92±0,01	2,77±0,03	

Під дією *Trichoderma lignorum* відбувалася зміна співвідношення форм хлорофілів. На більш пізніх етапах вегетації, незалежно від умов вирощування, у рослин під дією *Trichoderma lignorum* спостерігалася

зменшення співвідношення хлорофілу а до b в дослідному варіанті, що може свідчити про більш ефективній роботі ФС II в рослинах на більш пізніх термінах вегетації (табл. 3.3, 3.4). Результати досліджень щодо утримання спільного хлорофілу, хлорофілу а, b і співвідношенню форм хлорофілу у рослин пшениці, вирощених в різних умовах, показали, що найбільшу

ефективність *Trichoderma lignorum* проявила на рослинах пшениці, вирощених в умовах світлокультури (табл. 3.4). Так на 29 добу вегетації, ефективність дії *Trichoderma lignorum* на утримання загального хлорофілу у рослин, вирощених в умовах світлокультури, було більше в 1,5 раз у рослин сорту Смуглянка і більш ніж в 2 рази у рослин сорту Подолянка, порівняно з рослинами, вирощеними в умовах природного освітлення (табл. 3.3).

Таким чином, передпосівна обробка спорами гриба *Trichoderma lignorum* збільшувала загальний вміст зелених пігментів в листках пшениці протягом усього періоду розвитку, незалежно від сортової приналежності рослин і умов вирощування. Найбільшу стимулюючу активність показано було на рослинах пшениці низьковрожайного сорту Смуглянка і потенційно високоврожайного сорту Подолянка. Середньо врожайний сорт Антонівка був найменш чутливий на обробку грибом *Trichoderma lignorum*.

Збільшення розмірів і маси у проростків пшениці на 10 і 30 добу вегетації після обробки насіння спорами *Trichoderma lignorum* підтвердило можливість участі в регуляції ростових процесів рослин екзометаболітів гриба, які з'являються після проростання спор і розвитку міцелію. Зниження стимуляції росту пшениці на 30-ту добу вегетації під дією спор *Trichoderma lignorum*, ймовірно, пов'язане з раннім переходом рослин до процесу утворення репродуктивних органів [49].

Інгібуючий вплив *Fusarium* spp. на все морфологічно-фізіологічні параметри рослини, включаючи схожість насіння, вказує на те, що його

метаболіти проникають в тканини рослини вже на етапі обробки насіння. Рослини не здатні мобілізувати свій імунний потенціал для захисту від патогенів на ранніх стадіях розвитку, що узгоджується з даними літератури

[37]. *Trichoderma lignorum*, поряд з іншими відомими штамми цього гриба [52, 73], здатний знижувати інгібуючу дію метаболітів *Fusarium* spp. на ростові процеси рослин. Нейтралізуюча дія *Trichoderma lignorum* може бути пов'язана з його здатністю до пригнічення синтезу мікотоксинів *Fusarium* spp., або з їх руйнуванням [46].

Під впливом метаболітів *Fusarium* spp. достовірно зростала сума хлорофілів а і в: 10-у добу – на 45, 30-а доба – на 14 %.

Подібні зміни реакції в вмісті пігментів у рослин на стресові фактори відзначали Lichtenthaler (1987), Green, Durnford (1996), Kitajima, Hogan. (2003), Xing et al. (2013), Pavlović et al. (2014 року), Filimon et al. (2016), Sayyad-Amin et al. (2016), Shah et al. (2017). Зі збільшенням часу впливу патогена вміст зелених пігментів зменшився. Вплив мікроміцетів на зростання, морфологічні і фізіологічні параметри рослин в рамках концепції ендогенної регуляції (Mokronosov, 1978) має зачіпати процес фотосинтезу.

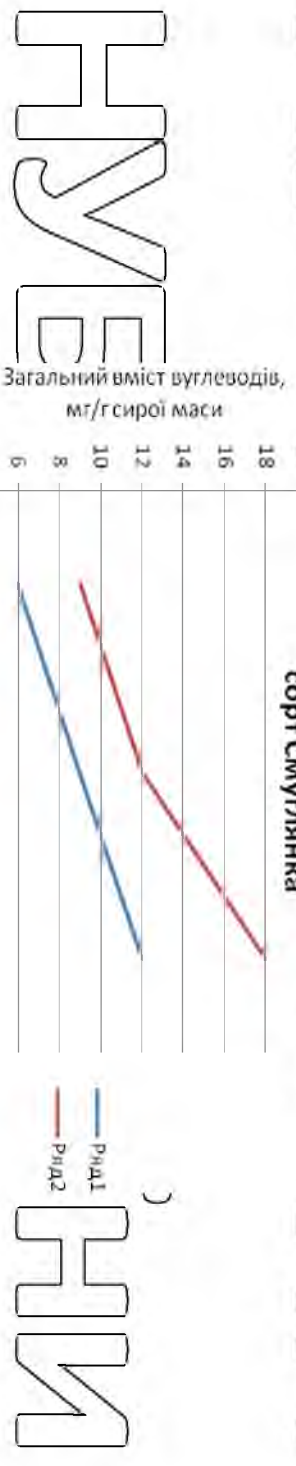
Однак обробка спорами *Trichoderma lignorum* не чинила впливу на швидкість нециклічного транспорту електронів в умовах обробки. *Fusarium* spp. інгібував даний процес. Додаткове внесення *Trichoderma lignorum* знижувало цей інгібуючий ефект.

### **3.5. Вплив грибів *Trichoderma lignorum* на накопичення білків і вуглеводів в рослинах пшениці**

Встановлено, що даний мікроорганізм значно збільшував накопичення вуглеводів в рослинах протягом усього періоду вегетації, не залежно від умов вирощування (рис. 3.5). Аналіз зміни вмісту вуглеводів у рослин, вирощених в умовах природного освітлення, показав, що вже на самих ранніх етапах розвитку у віці 10 дб у рослин сортів Смуглянка, Антонівка і Подолянка

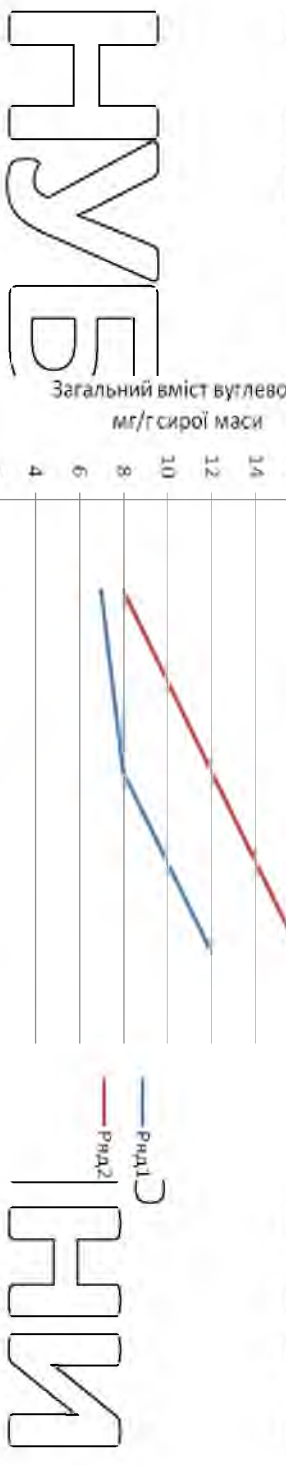


дослідженні родючості ґрунту, достовірно перевіряючи контрольні на 300%, 23% і 19% відмові на (рис. 3.5).



НУЕ

НУБ сорт Подольнянка



НУЕ

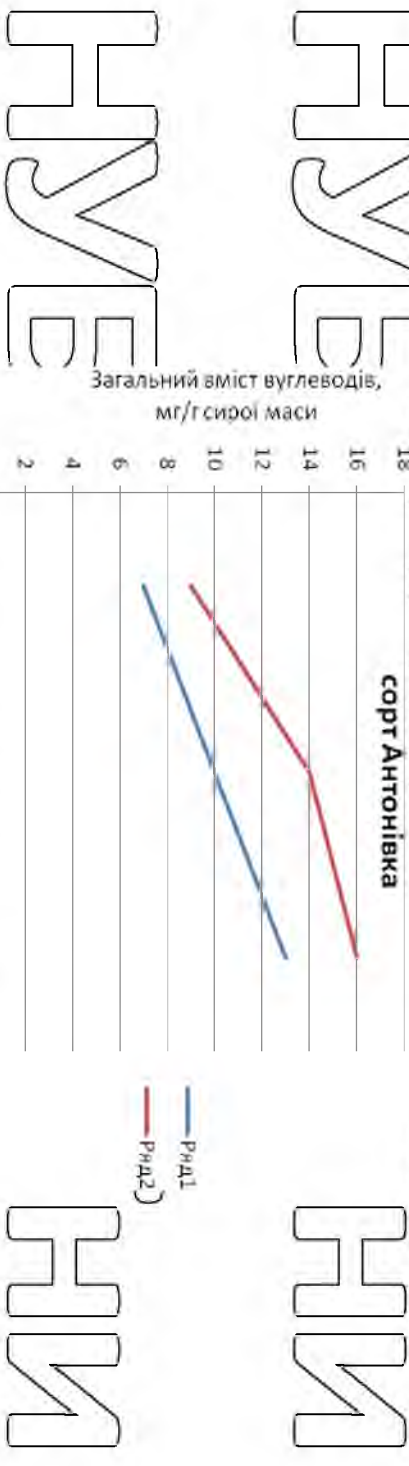


Рис. 3.5 Вплив гриба *Гістроделіа лігнорум* на загальний вміст вуглеводів в рослинах-пшеиці, вирощених в умовах природного освітлення

Примітка: Д – рослини, необроблені спорами гриба *Гістроделіа лігнорум*

Р – рослини, оброблені спорами гриба *Гістроделіа лігнорум*

НУБІП України

Результати за впливу грибів *Trichoderma lignorum* на сумарний вміст білків в листі пшениці показали, що в дослідних варіантах вміст даних метаболітів більше в порівнянні з контрольними рослинами

(рис. 3.6).

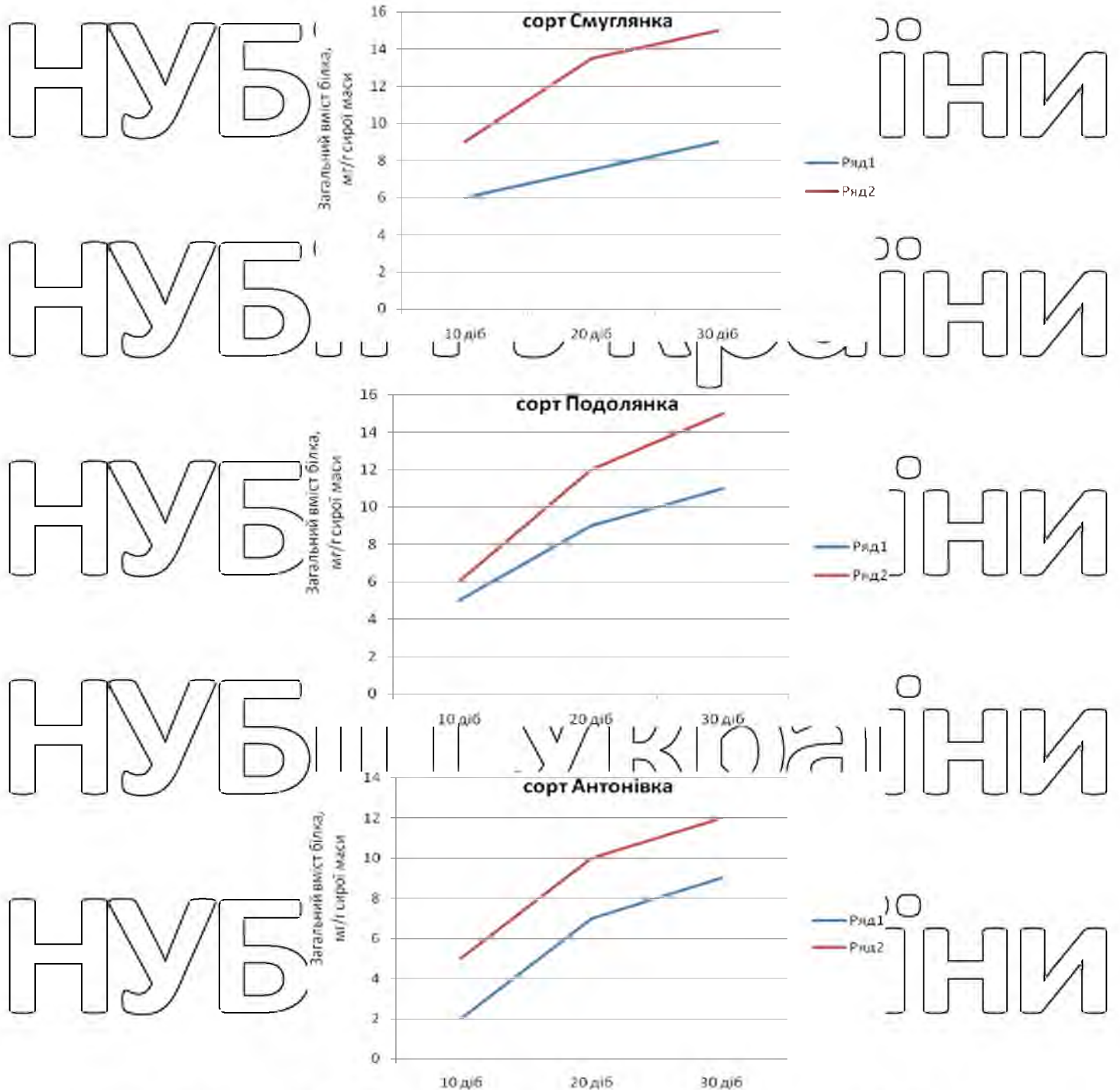


Рис. 3.6. Вплив гриба *Trichoderma lignorum* на загальний вміст білка в рослинах пшениці, вирощених в умовах природного освітлення  
Примітка: 1 – рослини, необроблені спорами гриба *Trichoderma lignorum*; 2 – рослини, оброблені спорами гриба *Trichoderma lignorum*.

На основі проведених досліджень можна зробити висновок, що гриб-антагоніст *Trichoderma lignorum* надавав позитивний вплив на загальний вміст вуглеводів і білка в рослинах пшениці всіх досліджуваних сортів.

Найбільший стимулюючий вплив даного мікроорганізму відзначено на низьковрожайних сорти Смуглянка.

### 3.6. Оцінка антагоністичної та ферментативної активності мікроорганізмів-антагоністів *T. lignorum*

Для оцінки ступеня прояву антагоністичної активності та механізмів дії на фітопатогени досліджували вплив штамів антагоністу *T. lignorum* на три штами фітопатогенних грибів роду *Fusarium* (*F. graminearum*, *F. sporotrichioides* та *F. avenaceum*) у лабораторних умовах (in vitro) методом подвійних культур.

Результати досліджень показали, що у контролі всі патогени інтенсивно розросталися і займали практично всю площу чашки Петрі, у середньому діаметр їх колоній становив 6,44 см, при цьому вони утворювали добре розвинений повітряний міцелій з яскравим пігментом.

Більшість штамів-антагоністів стримували ріст та розвиток фітопатогенів, у яких у деяких випадках втрачалася здатність утворювати розвинений повітряний міцелій та виробляти пігмент (табл. 3.5).

За результатами мікроскопіювання та візуального скринінгу антагоністичної активності досліджуваних штамів щодо грибів роду

*Fusarium* відзначали два механізми впливу: 1) утворення зони антагоністичної дії – зона стримування зростання патогену (антагонізм); 2) гіперпаразитизм – використання антагоністом патогену як субстрату, захоплення великої площі живильного середовища та росту на патогені.

Зазначено, що всі штами мікроміцету *Trichoderma* здатні до гіперпаразитизму.

Штам *T. lignorum* 2020-6 виявляв максимальний ступінь пригнічення росту (різниця діаметрів колоній фітопатогенного гриба у досліді та контролі, виражена у відсотках) у *F. graminearum* та *F. avenaceum* з ефектом

гіперпаразитизму на 10-ту добу (ступінь інгібування 100%). По відношенню до *F. sporotrichioides* вже на 5-ту добу ступінь інгібування становив 53-59%, на 10-ту 84% (табл. 3.5). Крім того, гриби *F. graminearum*,

*F. sporotrichioides* та *F. avenaceum* у присутності антагоністів (триходерми)

не утворювали щільного повітряного міцелію в порівнянні з контрольними.

Таблиця 3.5

Ступінь інгібування росту колоній грибів роду *Fusarium* антагоністами, %

Штами антагоністи	<i>F. graminearum</i>		<i>F. sporotrichioides</i>		<i>F. avenaceum</i>	
	доба		доба		доба	
	5	10	5	10	5	10
<i>T. lignorum</i> 2020-16	18	0	15	0	21	0
<i>T. lignorum</i> 2020-15	77	100	29	38	61	74
<i>T. lignorum</i> 2020-5	21	41	49	67	46	100
<i>T. lignorum</i> 2020-6	30	100	53	84	47	100
<i>T. lignorum</i> 2020-10	25	31	44	54	56	64

Штам *T. lignorum* 2020-5 проявляв гіперпаразитизм до штамів

*F. avenaceum* на 10-ту добу з максимальним ступенем пригнічення (100%). У

варіантах з *F. graminearum* та *F. sporotrichioides* зафіксовано прояв

гіперпаразитизму, штам *T. lignorum* 2020-5 утворював щільний вапик з

міцелію навколо колоній патогенів, ступінь інгібування зростання яких на

10-ту добу склала 41 та 67% відповідно. Зазначено, що у всіх варіантах

дослідження *T. lignorum* 2020-5 утворював добре розвинений повітряний міцелій з

забарвленням від білого до жовто-зеленого кольору та інгібувало зростання

повітряного міцелію у *F. graminearum* та *F. sporotrichioides*.

Мікроміцет *T. lignorum* 2020-15 виявляв антагонізм по відношенню до *F. graminearum* та *F. avenaceum* вже на 5 добу. Максимальний ступінь інгібування росту *F. graminearum* (100%) та *F. avenaceum* (74%) спостерігали

на 10 добу. Найбільш стійким до впливу *T. lignorum* 2020-15 виявився *F. sporotrichioides*, у якого на 10 добу відзначено мінімальну СІ (38%).

Відзначено слабкий розвиток міцелію у *F. graminearum* при вирощуванні подвійної культури з антагоністом, а при вирощуванні антагоніста *F. avenaceum* останній втрачав здатність утворювати яскравий пігмент.

Найнижчу СІ до грибів роду *Fusarium* виявив штам *T. lignorum* 2020-16.

Максимальний ступінь інгібування росту патогенів 15-21% спостерігалось на 5 добу, потім вплив антагоніста припинявся. При цьому тільки у *F. graminearum* спостерігали слабо розвинений повітряний міцелій, у решти

ізолятів відзначали добре розвинений міцелій та здатність утворювати яскравий пігмент.

Фунгістатичний вплив на всі патогени роду *Fusarium* з боку бактерій *F. lignorum* 2020-10 виявлявся як на 5-ту, так і на 10-ту добу. Найбільша активність антагоніста зареєстрована по відношенню до *F. sporotrichioides* та

*F. avenaceum* на 10 добу (54 і 64%). Найменше *B. amyloliquefaciens* пригнічував ріст *F. graminearum*, інгібування якого зазначено лише на 10-ту

добу (31%). При спільному вирощуванні антагоніста і патогенів у подвійній культурі до *F. sporotrichioides* та *F. avenaceum* виділяли пігмент, а у

*F. graminearum* пригнічувався розвиток повітряного міцелію.

В результаті проведених досліджень встановлено, що штамми-антагоністи показали різний ступінь інгібування залежно від часу інкубування (5-а або 10-та доба). Зазначені у мікроміцетів роду *Trichoderma*

здатності до антагонізму та гіперпаразитизму свідчать про поліфункціональний механізм впливу на патогени – вони здатні не тільки

стримувати та пригнічувати ріст грибів р. *Fusarium* за допомогою виділення антагоністичних речовин, але також здатні використовувати їх міцелій як субстрат. Відомо [16–19], що гриби роду *Trichoderma* є гіперпаразитами по

Відношенню до багатьох фітопатогенних мікроміцетів. Інгібування росту патогенів обумовлено здатністю мікопаразиту гідролізувати клітинні стінки грибів-господарів і використовувати їх як субстрат за рахунок продукованих ферментів і токсинів, що виділяються.

У досліджуваних антагоністів перевіряли активність утворення літичних ферментів, за допомогою яких здійснюється здатність до гієрпаразитизму. Саме літичні ферменти, як відомо, відповідальні за здатність антагоністів не тільки гідролізувати складні органічні сполуки, даючи їм переваги, але й гідролізувати клітинні стінки патогенів,

використовуючи їх як субстрат. Досліджували штами антагоністів на наявність трьох основних літичних ферментів – хітінази, ліпази та протеїнази. Ліпаза – широко поширений у живих організмах термостабільний фермент, що відноситься до класу гідролаз, каталізує розщеплення

складноэфірних зв'язків у ліпідах, необхідний для гідролізу молекул триацилгліцеридів з утворенням дигліцеридів, моногліцеридів, жирних кислот та глицерину; каталізує реакцію етерифікації та переетерифікації [16-17]. В результаті досліджень три антагоністи з п'яти показали наявність ліпазної активності: сильної – *T. lignorum* 2020-6 та середньої – *T. lignorum*

2020-15, *T. lignorum* 2020-5 (табл. 3.6).

Таблиця 3.6.

Здатність до утворення літичних ферментів у випробуваних антагоністів

Штами	Активність ферментів		
	Ліпаза	Протеїназа	Хітіназа
<i>T. lignorum</i> 2020-16	-	+	++
<i>T. lignorum</i> 2020-15	+++	+++	+++
<i>T. lignorum</i> 2020-5	+++	+++	+++
<i>T. lignorum</i> 2020-6	++++	++++	++++
<i>T. lignorum</i> 2020-10	-	++	+++



Це один важливий фермент, що виділяється мікроорганізмами, – хітиназа відповідає за деградацію хітину до мономерів та N-ацетиляглюкозамінів. Завдяки хітиназі мікроорганізми здатні деградувати

хітин, поширений у живих організмах, розм'якшуючи клітинну стінку грибів та уможливаючи їх використання як субстрат [20]. У літературі є дані, що

представники родів *Bacillus*, *Streptomyces*, *Trichoderma* мають хітинолітичну активність, але найбільш активними деструкторами хітину є саме

актиноміцети. Результати експрес-тестів показали, що найвищу хітиназну активність мають *T. lignorum* 2020-6, *T. lignorum* 2020-15, середньої –

*T. lignorum* 2020-5, *T. lignorum* 2020-10.

За гідроліз казеїну відповідають протеолітичні ферменти (протеїнази).

Протеїнази – екзоферменти мікроорганізмів та рослин, що каталізують гідролітичне розщеплення білків рослинних та тваринних залишків та

органічного добрива до поліпептидів, а потім до амінокислот, діючи на пептидний зв'язок [8, 22]. Результати тестування досліджуваних

мікроорганізмів показали, що сильну протеїназну активність мали *T. lignorum* 2020-6, *T. lignorum* 2020-15, слабкою – *T. lignorum* 2020-10 та *T. lignorum*

2020-16. Здатність до гіперпаразитизму та висока хітиназна активність мікроміцетів роду *Trichoderma* вказують на їх потенційні можливості до

гідролізу клітинних стінок фітопатогенів.

## ВИСНОВКИ

1. Гриби виду *Trichoderma lignorum* в складі біопрепарату Фіто-М підвищують енергію проростання і схожість насіння, посилюють ріст рослин на 10 і 30-у добу вегетації.

2. За додавання грибів виду *Trichoderma lignorum* в складі біопрепарату Фіто-М до живильного середовища збільшилася площа листя, маса надземної частини рослин і маса коренів.

3. У рослинах пшениці в культурі *in vitro* на середовищі з додаванням препарату Фіто-М на основі грибів *Trichoderma lignorum*, відзначено збільшення вмісту вуглеводів і білків. Найбільш істотний вплив проявився на сорті Смуглянка.

4. Під дією грибів *Trichoderma lignorum* в листках рослин пшениці збільшується загальний вміст хлорофілів, хлорофілів а і b, змінюється співвідношення їх форм в бік збільшення хлорофілу b, при цьому відзначається сортоспецифічність дії даних мікроорганізмів.

5. Встановлено, що виділені штами грибів *Trichoderma lignorum* мали різну антагоністичну активність по відношенню до фітопатогенних грибів роду *Fusarium*. Штам *T. lignorum* 2020-5 виявив високий ступінь інгібування (до 100%) росту патогенів.

6. Виділені штами-антагоністи мали різну активність продукування літичних ферментів: *T. lignorum* 2020-6 виявляв високу активність усіх трьох ферментів, *T. lignorum* 2020-15 – ендохітіназу і протеїназу активність.



## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Асатурова А.М., Дубяга В.М. Отбор агентов биологического контроля для защиты озимой пшеницы от возбудителей фузариоза. Научный журнал Кубанского государственного университета. 2012. № 75. С. 824–835.

2. Богданова А.И., Титова Ю.А. Антагонистическая активность штаммов *Trichoderma asperellum* – продуцентов мультиконверсионных биопрепаратов // Вестник защиты растений. 2014. № 1. С. 48–52.

3. Клімат України. За ред. В.М. Ліпінського, В.А. Дячук, В.М. Бабіченко. К.: Вид-во Раєвського, 2003. 343 с.

4. Литовка Ю.А., Савицкая А.Г., Рязанова Т.В. Видовой состав и фитотоксичные свойства микромицетов рода *Fusarium*, распространенных в лесных питомниках средней и южной Сибири. Хвойные бореальной зоны. 2011. № 3–4. С. 233–236.

5. Моргун В.В., Киризий Д.А., Шадчина Т.М. Экофизиологические и генетические аспекты адаптации культурных растений к глобальным изменениям климата. Физиология растений и генетика. 2010. 42, №1. С. 3–22.

6. Моргун В.В., Швартау В.В., Киризий Д.А. Физиологические основы формирования высокой продуктивности зерновых злаков. Физиология растений и генетика. № 5. С. 371–392.

7. Применение физиологии растений в селекции пшеницы. Пер. с англ. под ред. В.В. Моргуна. Киев: Логос, 2007. 492 с.

8. Стасик О.О., Киризий Д.А., Прядкина Г.А. Фотосинтез и проблемы повышения продуктивности растений. Физиология растений и генетика. 2013. Т. 45. №6. С. 501–516.

9. Шеламова С.А., Тырсин Ю.А. Индукция биосинтеза липаз микромицетом // Вестник Оренбургского государственного университета. 2012. № 1 (137). С. 172–176.

10. Evans J.R. Improving photosynthesis. *Plant Physiol.* 2013. 162, N 4. P. 1780–1793

11. Galmes J., Flexas J., Keys A.J. et al. Rubisco specificity factors tends to be larger in plant species from drier habitats and in species with persistent leaves. *Plant Cell Environ.* 2005. 28, N 5. P. 571–579.

12. Han H., Li Z., Ning T. et al. Radiation use efficiency and yield of winter wheat under deficit irrigation in North China. *Plant Soil Environ.* 2008. 54, N 7. P. 313–319.

13. Harris G.C., Koniger M. The 'high' concentrations of enzymes within the chloroplast. *Photosynth. Res.* 1997. 54, N 1. P. 5–23.

14. Jiang G.M., Sun J.Z., Lui Q.N. et al. Changes in rates of photosynthesis accompanying the yield increase in wheat cultivars released in the past 50 years. *J. Plant Res.* 2003. 16, N 5. P. 347–354.

15. Long S. P., Ort D.R. More than taking the heat: crops and global change. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2010. 13, N 3. P. 241–248.

16. Long S.P., Zhu X.G., Naidu S.L. et al. Can improvement in photosynthesis increase crop yields? *Plant. Cell. Environ.* 2006. 29, N 3. P. 315–330.

17. Monteith J.L. Climate and efficiency of crop production in Britain. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 1977. 281. P. 277–294.

18. Parry M.A.J., Andralojc P.J., Mitchel R.A.C. et al. Manipulation of Rubisco: the amount, activity, function and regulation. *Ibid.* 2003. 54, N 386. P. 1321–1333.

19. Parry M.A.J., Andralojc P.J., Scales J.C. et al. Rubisco activity and regulation as a targets for crop improvement. *Ibid.* 2013. 64, N 3. P. 717–730.

20. Parry M.A.J., Madgwick P.J., Carvalho J.F.C., Andralojc P.J. Prospects for increasing photosynthesis by overcoming the limitations of Rubisco. *J. Agr. Sci.* 2007. 145, N 1. P. 31–43.

21. Parry M.A., Reynolds M., Salvucci M.E. et al. Raising yield potential of wheat. II. Increasing photosynthetic capacity and efficiency. *J. Exp. Bot.* 2011. 62, N2. P. 453–467.

22. Reynolds M., Bonnett D., Chapman S.C. et al. Raising yield potential of wheat. I. Overview of a consortium approach and breeding strategies. *J. Exp. Bot.* 2011. 62, N 2. P. 439–452.

23. Reynolds M.P., Foulkes J., Furbank R. et al. Achieving yield gains in wheat. *Plant Cell Environ.* 2012. 35, N 10. P. 1799–1823.

24. Richards R.A. Selectable traits to increase crop photosynthesis and yield of grain crops. *Ibid.* 2000. 51. P. 447–458.

25. Spreitzer R.J., Salvucci M.E. Rubisco: structure, regulatory interactions, and possibility for a better enzyme. *Annu. Rev. Plant Biol.* 2002. 53. P. 449–475.

26. Tcherkez G.G.B., Farquhar G.D., Andrews T.J. Despite slow catalysis and confused substrate specificity, all ribulose biphosphate carboxylases may be nearly perfectly optimized. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 2006. 103, N 19. P. 7246–7251.

27. Tcherkez G. Modelling the reaction mechanism of ribulose-1,5-biphosphate carboxylase/oxygenase and consequences for kinetic parameters. *Plant Cell Environ.* 2013. 36, N 9. P. 1586–1596.

28. Von Caemmerer S. Biochemical models of leaf photosynthesis. Canberra: CSIRO Publishing, 2000. 195 p.

29. Whitney S.M., Houtz R.L., Alonso H. Advancing our understanding and capacity to engineer nature's CO<sub>2</sub>-sequestering enzyme, Rubisco. *Plant Physiol.* 2011. 155, N 1. P. 27–35.

30. Zhu X.-G., Long S.P., Ort D.R. Improving photosynthetic efficiency for greater yield. *Annu. Rev. Plant Biol.* 2010. 61. P. 235–261.

31. Zhu X.-G., Long S.P., Ort D.R. What is the maximum efficiency with which photosynthesis can convert solar energy into biomass. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2008. 19. P. 153–159.

32. Zhu X.-G., Portis A.R.Jr., Long S.P. Would transformation of C<sub>3</sub> crop plants with foreign Rubisco increase productivity? A computational analysis extrapolating from kinetic properties to canopy photosynthesis. *Plant Cell Environ.* 2004. 27, N 1. P. 155–165.

33. Miillenborn C., Steiner U., Ludwig M., Oerke E-C. Effect of fungicides on the complex of *Fusarium* species and saprophytic fungi colonizing wheat kernels. *Eur. J. Plant Pathol.* 2008. Vol. 120. P. 157-166.

34. Boutigny A-L, Ward TJ, van Coller GJ, Flett B, Lamprecht SC, O'Donnell K, Viljoen A. Analysis of the *Fusarium graminearum* species complex from wheat, barley and maize in South Africa provides evidence of species-specific differences in host preference. *Fungal Genet Biol.* 2011;48:914–920.

35. Межунц Б.Х., Навасардян М.А., Саргсян Т.А. Параметры продуктивности и биохимического состава двух видов рода *Taraxacum* L., произрастающих в разных вертикальных поясах // Поволжский эколог, журнал. 2010. № 3. С. 283-290.

36. Barbosa M.A.G., Rehn K.G., Menezes M., Mariano RdeL. Antagonism of *Trichoderma* species on *Cladosporium herbarum* and their enzymatic characterization. *Brazilian J. Microbiol.* 2001. V. 32 (2). P. 98–104. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822001000200005>

37. Bioregulation of microbial-plant systems G.A. Iutynska, S.P. Ponomarenko (eds). Kyiv, 2010 (in Russ).

38. Björkman O., Demming B. Photon yield of O<sub>2</sub> evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta.* 1987. V. 170 (4). P. 489–504. <https://doi.org/10.1007/BF00402983>

39. Burkin A.A., Soboleva N.A., Kononenko G.P. Toxin production by *Fusarium poae* from cereal grain in East Siberia and Far East regions. *Mikologiya i fitopatologiya.* 2008. V. 42 (2). P. 354–358 (in Russ.).

40. Cullimore J.V., Ranjeva R., Bono J.J. Perception of lipochitooligosaccharidic Nod factors in legumes. *Trends Plant Sci.* 2001. № 6. PP. 24–30.

41. De la Cruz-Quiroz R., Robledo-Padilla F., Aguilar C.N., Roussos S. Forced aeration influence on the production of spores by *Trichoderma* strains. *Waste Biomass Valor.* 2017. № 8. PP. 2263–2270



42. Denga D.-J., Huang W.-Q., Lia Z.-W., Lua D.-L., Zhang Y., Luo X. Biocontrol activity of recombinant aspartic protease from *Trichoderma harzianum* against pathogenic fungi // *Enzyme and Microbial Technology*. 2018. № 112. PP.

35–42

43. Duniway J.M., Slatyer R.O. Gas exchange studies on the transpiration and photosynthesis of tomato leaves affected by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Phytopathology*. 1971. V. 61. P. 1377–1381.

<https://doi.org/10.1094/Phyto-61-1377>

44. Duffy B., Schouten A., Raijmakers J.M. Pathogen self-defense: mechanism to counteract microbial antagonism *Annu. Rev. Phytopathol.* 2003. № 41. PP. 501–538.

45. El Komy M.H., Saleh A.A., Eranthodi A., Molan Y.Y. Characterization of novel *Trichoderma asperellum* isolates to select effective biocontrol agents against tomato *Fusarium* wilt. *Plant Pathology*. 2015. V. 31 (1). P. 50–60.

<https://doi.org/10.5423/PPJ.CA.09.2014.0087>

46. El-Hasan A., Walker F., Buchenauer H. *Trichoderma harzianum* and its metabolite 6-pentyl-alpha-pyrone suppress fusaric acid produced by *Fusarium moniliforme*. *J. Phytopathol.* 2008. V. 156 (2). P. 79–87.

<https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2007.01330>

47. Filimon R.V., Rotaru L., Filimon R.M. Quantitative investigation of leaf photosynthetic pigments during annual biological cycle of *Vitis vinifera* L. table grape cultivars. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* 2016. V. 37 (1). P. 1–14.

<https://doi.org/10.21548/37-1-753>

48. Gagkayeva T.U., Gavrilova O.P., Levitin M.M., Novozhilov K.V. *Fusarium* of cereals. *Zashchita i karantin rasteniy*. 2011. № 5. P. 86–91 (in Russ.).

49. Golovanova T.I., Timonina T.V. Effect of spores of fungus of the genus *Trichoderma* on tomatoes. *Vestnik Krasnoyarskogo gosudarstvennogo universiteta*. 2004. № 7. P. 48–53 (in Russ.).

50. Golovanova T.I., Loginova Y.A. The reaction of the photosynthetic apparatus to the treatment of wheat plants with spores of the fungus of the genus



Trichoderma. Vestnik Krasnoyarskogo gosudarstvennogo universiteta. 2005. N 5. P. 210–215 (in Russ.).

51. Golovanova T.I., Dolinskaya Y.V., Sizhkaruk Y.A. The relationship of soil fungus Trichoderma and spring wheat. Vestnik KrasGAU. 2009. N 7. P. 102–107 (in Russ.).

52. Gomes E.V., Costa M.N., Paula R.G., Azevedo R.F., Silva F.L., Noronha H.F., Ulhoa C.J., Monteiro V.N., Cardoza R.E., Cufiérrez S., Silva R.N. The Cerato-Platanin protein Epl-1 from Trichoderma harzianum is involved in mycoparasitism, plant resistance induction and self cell wall protection. Sci. Rep. 2015. V. 5. P. 17998. <https://doi.org/10.1038/srep17998>

53. GOST 12038-84. Agricultural seeds. Methods for determination of germination. Moscow, Standartinform, 2011 (in Russ.).

54. GOST R 52471 – 2005. Feedstuffs. Immunoenzyme method of mycotoxin determination. Moscow, Standartinform, 2006 (in Russ.).

55. Green B.R., Durnford D.G. The chlorophyll – carotenoid proteins of oxygenic photosynthesis. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 1996. V. 47. P. 685–714. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.47.1.685>

56. Gromovykh T.I., Shmarlovskaya S.V., Tyulpanova V.A., Gromovykh V.S. Strain of the fungus Trichoderma sp. MG-97 used to protect conifer seedlings from fusariosis. Patent. 2001. № 2171580 (in Russ.).

57. Gromovykh T.I., Litovka Yu.A., Gromovykh B.C., Makhova Ye.G. Effect of Trichoderma asperellum (strain MG 97) towards fusariosis of Larix sibirica seedlings. Mikologiya i fitopatologiya. 2002. V. 36 (4). P. 70–75 (in Russ.).

58. Jassby A.D., Platt T. Mathematical formulation of the relationship between photosynthesis and light for phytoplankton. Limnol Oceanogr. 1976. V. 21 (4). P. 540–547. <https://doi.org/10.4319/lo.1976.21.4.0540>

59. Kitajima M., Butler W.L. Quenching of chlorophyll fluorescence and primary photochemistry in chloroplasts by dibromo-thymoquinone. Biochem.



Biophys. Acta. 1975. V. 376. P. 105–115. [https://doi.org/10.1016/0005-2728\(75\)90209-1](https://doi.org/10.1016/0005-2728(75)90209-1)

60. Kitajima K., Hogan K.P. Increases of chlorophyll a/b ratios during acclimation of tropical woody seedlings to nitrogen limitation and high light. *Plant, Cell and Environment*. 2003. V. 26. P. 857–865. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2003.01017.x>

61. Klein D., Eveleigh D.E. Ecology of Trichoderma. (In: C.P. Kubicek, G.E. Harman (eds.) *Trichoderma and Gliocladium. Basic biology, taxonomy and genetics*. V. 1. London, Taylor and Francis Ltd., 1998. P. 57–73.

62. Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*. 1987. V. 148. P. 350–382. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)

63. Lorenzini G., Guidi L., Nali C., Ciompi S., Soldatini G.F. Photosynthetic response of tomato plants to vascular wilt diseases. *Plant Science*. 1997. V. 124. P. 143–152. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(97\)04600-1](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(97)04600-1)

64. Matarese F., Sarrocco S., Gruber S., Seidl-Seiboth V., Vannacci G. Biocontrol of Fusarium head blight: interactions between Trichoderma and mycotoxigenic Fusarium. *Microbiology*. 2012. V. 158. P. 98–106. <https://doi.org/10.1099/mic/0/052639-0>

65. Meera M.S., Shivanna M.B., Kageyama K., Hyakumachi M. Plant growth promoting fungi from Zoysiagrass rhizosphere as potential inducers of systemic resistance in cucumbers. *Phytopathology*. 1994. V. 84. P. 1399–1406. <https://doi.org/10.1264/jsmc2.me10176>

66. Montealegre J.R. Selection of bioantagonistic bacteria to be used in biological control of *Rhizoctonia solani* in tomato. *Electronic Journal of Biotechnology*. 2003. № 6 (2). PP. 115–127.

67. Mukherjee P.K., Kenerley Ch.M. Regulation of morphogenesis and biocontrol properties in Trichoderma virons by a Velvet Protein, Vell. *Applied and environmental microbiology*. 2010. V. 76 (7). P. 2345–2352. <https://doi.org/10.1128/AEM.02391-09>



68. Pshibytko N.I., Zenevich L.A., Kabashnikova L.F. Changes in the photosynthetic apparatus during fusarium wilt of tomato. *Fiziologiya rasteniy*. 2006. V. 53 (1). P. 31–37 (in Russ.).

69. Regalado A.P., Pinheiro C., Vidal S. The *Lupinus albus* class-III chitinase gene, IF3, is constitutively expressed in vegetative organs and developing seeds. *Planta*. 2000. № 210. PP. 543–550.

70. Samuels G.J., Lieckfeldt E., Nirenberg H.J. *Trichoderma asperellum*, a new species with warted conidia, and redescription of *T. viride*. *Sydowia*. 1999. V. 51 (51). P. 71–88.

71. Samuels G.J. *Trichoderma*: Systematics, the sexual state, and ecology. *Phytopathology*. 2006. V. 96. P. 195–206. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-0195>

72. Santos L., Lucio J., Odair J., Carneiro M.L., Alberto C. Symptomless infection of banana and maize by endophytic fungi impairs photosynthetic efficiency. *New Phytol*. 2000. V. 147. P. 609–615.

73. Singh A., Shukla N., Kabadwal B.C., Tewari A.K., Kumar J. Review on plant – *Trichoderma*-pathogen interaction. *Int. J. Current Microbiol. Appl. Sci*. 2018. V. 7 (2). P. 2381–2397. <https://doi.org/10.20546/ijemas.2018.702.291>

74. Tian Y., Tan Y., Liu N., Yan Z., Liao Y., Chen J., de Saeger S. Detoxification of deoxynivalenol via glycosylation represents novel insights on antagonistic activities of *Trichoderma* when confronted with *Fusarium graminearum*. *Toxins*. 2016. V. 8 (11). P. 335. <https://doi.org/10.3390/toxins8110335>

75. Tsavkelova E.A., Klimova S.Y., Cherdyntseva T.A. and Netrusov A.I. Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: A review. *Applied Biochem. Microbiol*. 2006. V. 42. P. 117–126.

76. Van Loon L.C. Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. *Plant Pathology*. 2007. V. 119. P. 243–254. <https://doi.org/10.1007/s10658-007-9165-1>



77. Wu H. Sh., Bao W., Liu D.-Y., Ling N., Ying R.-R., Raza W., Shen Q.-R. Effect of fusaric acid on biomass and photosynthesis of water-melon seedlings leaves. *Caryologia*. 2008. V. 61 (3). P. 258-268.

<https://doi.org/10.1080/00087114.2008.10589638>

78. Yedidia I., Srivastva A.K., Kapulnik Y., Chet I. Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. *Plant and Soil*. 2001. V. 235 (2). P. 235-242.

79. Yedidia I., Shores M., Kerem Z., Benhamou N., Kapulnik Y., Chet I. Concomitant induction of systemic resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* in cucumber by *Trichoderma asperellum* (T-203) and accumulation of phytoalexins. *Applied Envir. Microbiol.* 2003. V. 69 (12). P. 7343-7353.

<https://doi.org/10.1128/aem.69.12.7343-7353.2003>

80. <http://www.dissercat.com/content/griby>

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України