

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт Фундаментальной Биологии и Биотехнологии

Кафедра водных и наземных экосистем

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой



М.И. Гладышев

« 1 » июля 2020г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА


06.03.01 Биология

Код и наименование специальности

Влияние биопрепаратов на основе грибов *Trichoderma Viride* и бактерий
Bacillus Subtillis на рост и развитие *Avena Sativa*

Тема работы

Научный руководитель



Подпись, дата

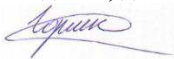
доцент, д.б.н

Должность, ученая степень

Голованова Т.И.

Инициалы, фамилия

Выпускник



Подпись, дата

Горшков Е.О.

Инициалы, фамилия

Красноярск 2020

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	6
1.1 Микроорганизмы-антагонисты патогенов.....	6
1.2 Патогены растений	7
1.3 Положительное воздействие биологических агентов	7
1.4 Грибы рода <i>Trichoderma</i>	8
1.5 Морфологическая характеристика <i>Trichoderma</i>	9
1.6 Микопаразитизм.....	13
1.7 Факторы среды, влияющие на рост микромицетов <i>Trichoderma</i>	14
1.8 Влияние <i>Trichoderma</i> на почвенную микрофлору.....	15
1.9 Влияние <i>Trichoderma</i> на рост и развитие растительных организмов.	21
1.10 Влияние <i>Trichoderma</i> на почву	22
1.11 Биологическая защита растений.....	23
1.12 Влияние <i>Trichoderma</i> на злаковые культуры	25
1.13 Биопрепараты	26
1.14 Биопрепараты на основе бактерий рода <i>Bacillus</i>	27
2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	30
2.1 Объекты исследования.....	30
2.1.1 Описание <i>Avena Sativa</i>	30
2.1.2 Описание гриба <i>Trichoderma</i>	31
2.1.3 Описание бактерий <i>Bacillus Subtilis</i>	33
2.2 Методы исследования	33
2.2.1 Условия выращивания растений	33
2.2.2 Определение морфофизиологических параметров растений.....	34
2.2.3 Определение содержания фотосинтетических пигментов	35
2.2.4 Определение фотосинтетической активности листьев	36
2.2.5 Статистическая обработка материалов.....	38
3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ	39
3.1 Влияние биопрепаратов «ТРИХОДЕРМА ВЕРИДЕ» и «СПОРОБАКТЕРИН – РАССАДА» на всхожесть и энергию прорастания <i>Avena Sativa</i>	39

3.2	Влияние биопрепаратов «ТРИХОДЕРМА ВЕРИДЕ» и «СПОРОБАКТЕРИН – РАССАДА» на морфо-физиологические параметры <i>Avena Sativa</i>	41
3.3	Влияние биопрепаратов «ТРИХОДЕРМА ВЕРИДЕ» и «СПОРОБАКТЕРИН – РАССАДА» на накопление биомассы растения <i>Avena Sativa</i>	45
3.4	Влияние биопрепаратов «ТРИХОДЕРМА ВЕРИДЕ» и «СПОРОБАКТЕРИН – РАССАДА» на содержание пигментов в надземной части <i>Avena Sativa</i>	51
3.5	Влияние биопрепаратов «ТРИХОДЕРМА ВЕРИДЕ» и «СПОРОБАКТЕРИН – РАССАДА» на биофизические параметры растений <i>Avena Sativa</i>	55
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	65
	СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	67

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность. Современные глобальные проблемы человечества негативно сказываются на жизни современного человека. Стремительно растёт человеческая популяция, и, следовательно, растут потребности человека в пище, поэтому одной из важнейших задач современных исследований является повышение продуктивности сельскохозяйственных растений.

В настоящее время зарегистрировано большое количество фитопатогенных грибов, бактерий, вирусов, способных привести к болезням или полной гибели растения. Но сложившаяся экологическая ситуация в мире ведёт к запрету использования химических препаратов, вследствие их пагубного влияния на почву и почвенные организмы, делая тем самым её не пригодной для ведения какого-либо хозяйства. В связи с этим огромный интерес представляют разработки экологически безопасных фунгицидов, представляющих огромный спектр как защитного воздействия на растительные организмы от фитопатогенных микроорганизмов и негативных абиотических факторов окружающей среды, так и воздействие, стимулирующее рост и развитие растительного организма.

Воздействие микроорганизмов может сказываться как отрицательно, так и положительно на ростовые процессы растений и на их восприимчивость к различному роду болезням. Положительное действие основано на антагонистическом свойстве микроорганизмов. К таким микроорганизмам относятся грибы рода *Trichoderma*, а также бактерии, например, *Bacillus Subtillis*. Препараты, полученные на основе микроорганизмов-антагонистов безопасны для живых организмов и окружающей среды. Это является их отличительной особенностью от других способов защиты растений. Изучение взаимодействия микроорганизмов-антагонистов патогенов и растений в настоящее время представляет большой научный интерес и особенно

актуально в связи с возможностью альтернативной замены пестицидов на вещества биологической природы.

Научная новизна. В сельском хозяйстве чаще всего применяются биопрепараты грибного и бактериального происхождения, а именно препараты на основе грибов рода *Trichoderma* и бактерий рода *Bacillus*. Исследователями отмечен их высокий стимулирующий и защитный эффект на различных сельскохозяйственных культурах. Написано множество статей, описывающих их высокую антагонистическую и гиперпаразитическую активность. Следует отметить, что механизм взаимодействия микроорганизмов-антагонистов изучен не достаточно полно и поэтому исследования взаимодействий бактерий с растениями представляет научную новизну и требует дальнейших исследований.

Поэтому принципиально новым является изучение влияния биопрепаратов, созданных на основе микроорганизмов-антагонистов, на физиолого-биофизические процессы, происходящие в растениях.

Практическая значимость. Полученные результаты исследования могут быть использованы для рационального применения биопрепаратов, созданных на основе микроорганизмов-антагонистов патогенов в сельском хозяйстве и растениеводстве для повышения урожайности и снижении заболеваемости растений.

Цель данного исследований - изучение влияния биопрепаратов на основе гриба рода *Trichoderma viride* и бактерий *Bacillus Subtillis* на ростовые процессы *Avena Sativa*.

Задачи исследования:

1. Выбрать наиболее эффективную концентрацию биопрепаратов, созданных на основе *Trichoderma Viride* и *Bacillus Subtillis*, для обработки *Avena Sativa*.
2. Определить влияние исследуемых биопрепаратов на:

- всхожесть и энергию прорастания *Avena Sativa*;
- морфофизиологические параметры исследуемого растения;
- содержание пигментов и их соотношение в листьях растений;
- биофизические параметры: скорость электронного потока и квантовый выход.

Исследования выполнялись на кафедре водных и наземных экосистем института фундаментальной биологии и биотехнологии под руководством доктора биологических наук, профессора Т.И. Головановой.

Автор выражает благодарность кандидату биологических наук, доктору биологических наук, профессору Н. А. Гаевскому за обучение работы на приборе «ПАМ-флуоримет».

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Микроорганизмы-антагонисты патогенов

На сегодняшний день взаимоотношения между организмом и окружающей средой являются очень острым вопросом в современной биологии. Микроорганизмы являются одним из важнейших факторов, влияющим на жизнедеятельность растительных организмов. Среди них существует множество видов, которые являются фактором, ограничивающим урожайность растений. Они способны синтезировать токсические вещества, тем самым ингибируя рост растений. Данная проблема становится критически важной, когда поражаются экономически важные сельскохозяйственные культуры, в следствие этого существует необходимость защиты урожая.

В результате активных исследований было определена перспектива обработки растений микроорганизмами–антагонистами возбудителей болезней. Было установлено, что в основе механизма биологической защиты от патогенов лежат естественные явления сверхпаразитизма и антибиоза между сапротрофной, паразитарной и патогенной микробиотой. Несмотря на это, такие организмы могут позитивно влиять на рост и развитие растений, что даёт возможность использовать их как регулятор ростовых процессов растений (Голованова, 2015).

На данный момент существует проблема недостаточной изученности механизма взаимодействия микроорганизмов-антагонистов с растениями и воздействия их метаболитов на жизненный цикл растения, а без данных знаний нельзя научиться регулировать и управлять метаболическими процессами растительного организма.

На сегодняшний день широкое распространение получили биопрепараты на основе различных ассоциативных микроорганизмов. Они эффективно защищают сельскохозяйственные культуры от различных фитопатогенов, тем самым стимулируя урожайность и его качество (Голованова, 2009).

1.2 Патогены растений

К патогенным организмам растений относятся как некоторые почвенные бактерии из родов *Erwinia*, *Xanthomonas*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Verticillium*, так и фитопатогенные грибы: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*. (Громовых и др., 2002). Самым распространённым родом является *Fusarium*, характеризующуюся способностью паразитировать на органах и тканях растительных организмов. *Fusarium* способен снижать характеристики всхожести семян, интенсивность накопления биомассы и формирования ассимиляционного аппарата, также может изменять состав прикорневой микрофлоры растения (Голованова, 2010).

У зараженных растений корни изменяют цвет, образуется гниль, заметно утончается прикорневая часть стебля по сравнению со здоровыми растениями. При поражении семядолей, происходит образование вдавленных красно-бурых пятен, которые при повышении влажности образуют белый налёт гриба. Зачастую не успевающие выйти на поверхность всходы погибают, если же они выживают, то сильно отстают в росте и развитии и плохо закреплено на субстрате. В зонах повышенной влажности риск развития заболевания увеличивается (Литовка, 2002).

1.3 Положительное воздействие биологических агентов

Существует и положительно влияющие микроорганизмы, регулирующие популяции различных фитопатогенных бактерий и улучшающие жизнедеятельность вегетирующего растения. На клеточном уровне влияние ассоциативных микроорганизмов направлено на регуляцию и нормализацию физиолого-биохимических процессов в растительной клетке. Особо важной группой антагонистически активных микроорганизмов почвенных фитопатогенов являются грибы рода *Trichoderma*, способные заселять поверхность корней и прилегающий к ним слой почвы. Синтезируя особые вещества в течение всего жизненного цикла, они стимулируют на рост

и развитие растений и ограничивать развитие фитопатогенной микрофлоры (Громовых, 2005).

Есть достоверные данные о том, что биологические агенты воздействуют на ростовые процессы растительных организмов через экзометаболиты: они стимулируют рост длины надземной части и корневой системы, увеличивают сырую и сухую биомасса, объем корневой системы, количество листьев. Любое воздействие микроорганизмов-антагонистов и биопрепаратов, в первую очередь зависит от растения, их анатомо-морфологических особенностей, а также от условий выращивания (Голованова 2009).

1.4 Грибы рода *Trichoderma*

Trichoderma является свободноживущими грибами, распространенными в почвенных и корневых экосистемах (Harman, 2004). Род *Trichoderma* состоит из 200 видов (Klein, Eveleigh, 1998) и принадлежит к типу *Ascomycetes*, классу *Sordariomycetes*, отряду *Hypocreales*, семейству *Hypocreaceae* (Vinale, 2008). Впервые род *Trichoderma* был предложен С.Н. Persoon в 1794 году (Sevketov, 1982; Samuels, 2006). Большинство видов были определены в начале XXI века). Грибы данного рода встречаются во всех климатических зонах. Наиболее типичными местами обитания для них являются почва и гниющая древесина (Vinale, 2008).

Данный род характеризуются быстрым ростом, высокой продукцией зеленоватых конидиальных спор и способностью образовывать при неблагоприятных условиях склероций – округлые тела, состоящие из плотно сплетенных нитей мицелия. Также грибы синтезируют пигменты, поэтому цвет может варьироваться от зеленовато-желтых до красноватых оттенков, но есть и бесцветные виды (Strakowska, 2014).

На сегодняшний день *Trichoderma* является самым используемым агентом биоконтроля патогенов растений (Harman, 2004). R. Weindling (1932) первым указал на потенциальную способность *Trichoderma* выступать

эффективным агентом биоконтроля болезней растений (Klein, Eveleigh, 1998). Также из тканей гриба выделяют антибиотик - трихотецин и триходермин - средство защиты растений от грибных болезней (Голованова, 2009).

Микромицет рода *Trichoderma* активно создаёт целлюлазу и способен к глубокому разрушению как клеточных стенок растений, так и отдельных сложно расщепляемых растительных полисахаридов: целлюлозы, гемицеллюлозы, пектина до мономерных форм (Гнеушева, 2010). В настоящее время активно исследуются фенолоксидазы микромицета в связи со значительной ролью этих ферментов в биодegradации лигнина (Harman, 2000). Также, *Trichoderma viride* выступает биодеструктором лигноцеллюлазных материалов, это связано с тем, что она показывает высокую целлюлазную активность на любых питательных средах (Лазарева, 2008).

1.5 Морфологическая характеристика *Trichoderma*

Род *Hypocreaceae* и его анаморфа *Trichoderma* - типичные представители всех типов влажных лесов (Druzhinina, 2004). Эти грибы с легкостью определяются своей яркой окраской. Большинство типичных штаммов рода *Hypocreaceae* паразитируют на культивируемых и съедобных грибах (Алимова, 2006).

Штаммы этих грибов широко распространены не только во влажных тропических и субтропических лесах, но также в засушливых умеренных и северных зонах и часто встречаются в более экстремальных нишах - на крайнем севере и крайнем юге. *Hypocrea* можно найти на древесине, на мицелии других членов *Ascomycota*, на живых базидиомицетах, на съедобных грибах на различных стадиях разложения, реже на травянистых участках. Штаммы *Hypocrea* образуют 8 аскоспор с перетяжкой, расположенной в одной оболочке на ранних стадиях онтогенеза. Аскоспоры не имеют цвета, но возможны зеленые оттенки, рано распадаются на две округлые, овальные, удлиненные аскоспоры, не имеющие одинаковую форму. Таким образом, сумки содержат 16 аскоспор.

Хотя штаммы *Trichoderma* (рис.1) выделяются из почвы, они могут расти на деревьях, на шляпках культурных грибов и лесных грибах. Эти грибы определяются по массе конидий, зеленого цвета, но можно найти белые и желтые. Иногда грибы встречаются на влажных стенах зданий, как эндофиты, в стволах деревьев влажного тропического леса. *Trichodemra* составляет значительную часть биомассы почвенных грибов (Алимова, 2006).

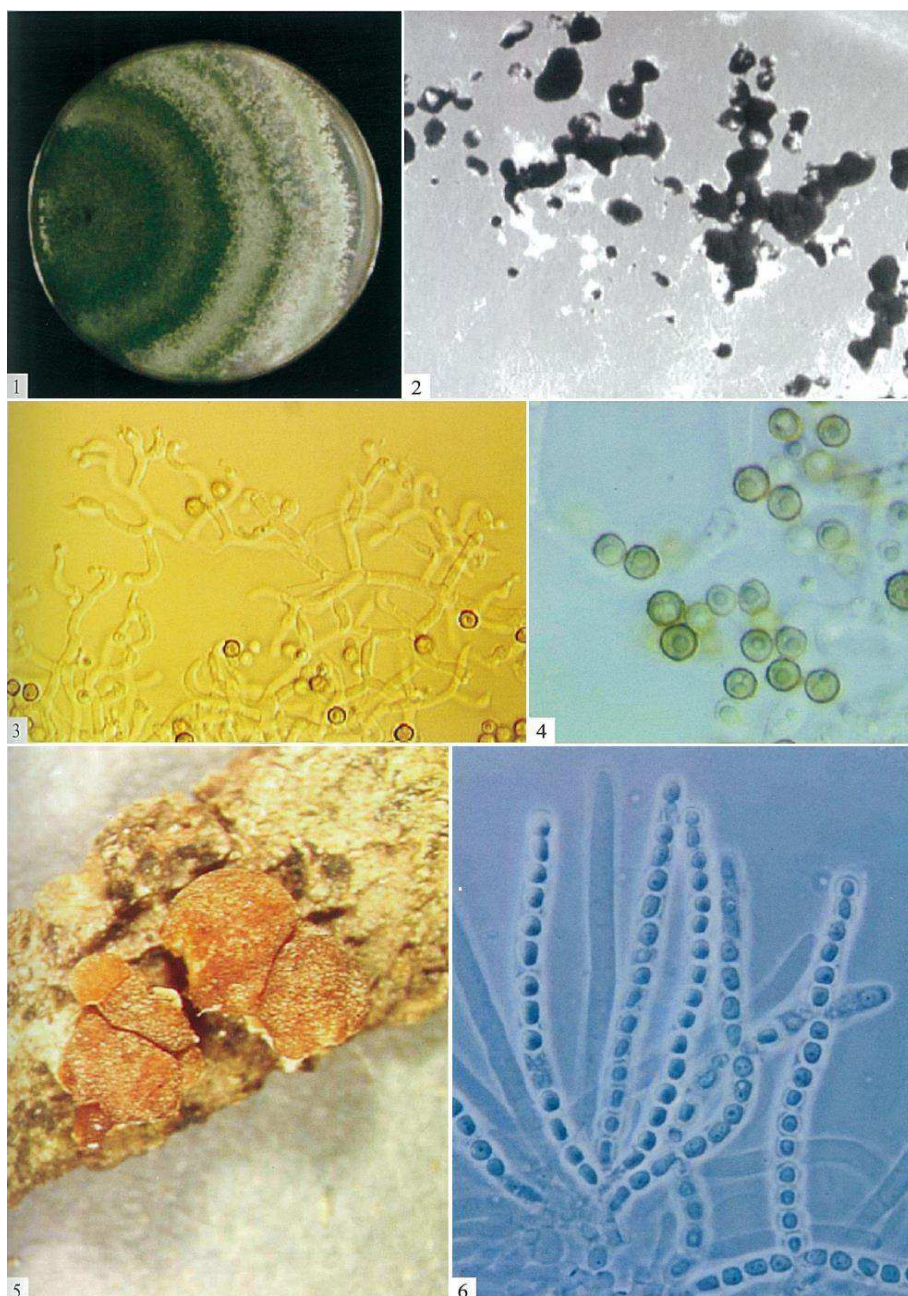


Рисунок 1. *Trichoderma Viride*.

1. Колония на PDA. 2. Пустулы. 3. Конидиофоры. 4. Конидии. 5. Строматы. 6. Аски. (Алимова, 2005).

Основные морфологические признаки *Trichoderma*:

- колонии, у разных штаммов имеют характерные различия для каждого штамма;
- скорость роста культуры на различных субстратах при различных температурах могут оказаться одинаковыми;
- образование конидий из разросшихся конидиофор, либо из конидиофор, сгруппированных в грозди или пустулы;
- наличие диффузного пигмента. Впервые выделенные штаммы секции *Longibrachiatum* обладают ярким зеленовато-желтым пигментом, и, напротив, характерные для многих штаммов тускло-зеленоватые не являются отличительными признаками. Также существуют штаммы, у которых полностью отсутствует пигмент. Несколько видов имеют красноватые оттенки;
- в среде где есть *Trichoderma aureoviride* образуются особые кристаллы;
- большинству видам *Trichoderma* присущ запах плесени и затхлости, штаммы *Trichoderma viride* и иногда также *Trichoderma atroviride* имеют характерный аромат, отдаленно напоминающие кокос;
- разветвление и объединение конидиофор в грозди и пустулы - важный признак для определения штаммов *Trichoderma* по группам и видовым совокупностям:
- иногда встречаются скученные пустулы, широко распространены у секции *Pachybasium*;
- разветвление конидиофор может быть правильно мутовчатым или более беспорядочным; бывают широкими и прямыми или соответственно узкими и изогнутыми;
- верхушка конидиофор некоторых штаммов из группы *Pachybasium* может заканчиваться стерильным отростком, который бывает следующих типов: прямой, извитый и спиралевидный;
- фиалиды могут находиться в правильных мутовках, быть сдвоенными, чередующимися или менее правильно расположенными; типичная форма

фиалид – короткая и округлая; терминальные фиалиды у многих штаммов часто продолговатые и более узкие, во многих случаях могут быть и шиловидные;

- субтерминальные клетки конидиофор могут образовывать конидии через короткое, боковое горлышко – афанофиалиды, которые часто встречаются у *Trichoderma* в секции *Longibrachiatum*;

- форма конидий может быть различной – от сферической до эллиптической. -

- обнаружена *Trichoderma* с яйцевидными или короткоцилиндрическими конидиями, с базальной основой, более или менее конусообразной и усеченной. Число возможных вариаций размеров конидий у *Trichoderma* невелико, тем не менее, родственные штаммы часто могут быть дифференцированы по значимым отличиям в размерах;

- поверхность конидий у большинства штаммов гладкая, но при изучении некоторых штаммов сканирующим электронным микроскопом может обнаруживаться, что они слабо орнаментированы. Существуют также варианты шероховатых и бородавчатых конидий в агрегатах *Trichoderma viride*, а также в двух штаммах *Trichoderma saturnisporum* и *Trichoderma ghanense*. Конидии могут быть пузырчатые или иметь выступы внешней стенки;

- пигментация конидий варьируется от бесцветной до оттенков зеленого, реже серого или коричневого. У некоторых штаммов зрелая конидия при изучении через микроскоп имеет темно-зеленый цвет, в других штаммах только бледный;

- хламидоспоры характерны для многих штаммов, хотя не все штаммы образуют хламидоспоры при 20°C в течение 10 дней. Чаще всего у большинства штаммов они сферические или эллипсоидные, терминальные и интеркалярные, гладкостенные, бесцветные, желтоватые или зеленоватые, 6-15 μm в диаметре. У грибов *Trichoderma stromaticum*, кроме типичных хламидоспор, образуются шарообразные хламидоспоры внутри клеток. Штамм *Trichoderma virens* отличается тем, что в чистой культуре образует

большое количество хламидоспор. Растущие гифы имеют лишь небольшое количество признаков, значимых для идентификации. Хламидоспоры у некоторых штаммов состоят из множества клеток, у *Trichoderma stromaticum*; - некоторые штаммы образуют синанаморфы, которые затем формируют пустулы. Синанаморфы выявляют по одиночному типу конидиофора, конидии которого находятся в капле жидкости светло-зеленого цвета на концах каждой фиалиды.

На образование конидий влияют разные типы стресса. Мексиканские ученые установили, что конидиогенез *Trichoderma atroviride* индуцируется повреждением мицелия (Алимова, 2005).

1.6 Микопаразитизм

Грибы рода *Trichoderma* обладают паразитическими свойствами. Микопаразитизм является одним из наиболее важных механизмов действия грибов рода *Trichoderma* на патогены (рис. 2) (Долинская, 2011).

Данный процесс состоит из нескольких стадий:

- узнавание хозяина,
- нападение,
- проникновение,
- уничтожение.

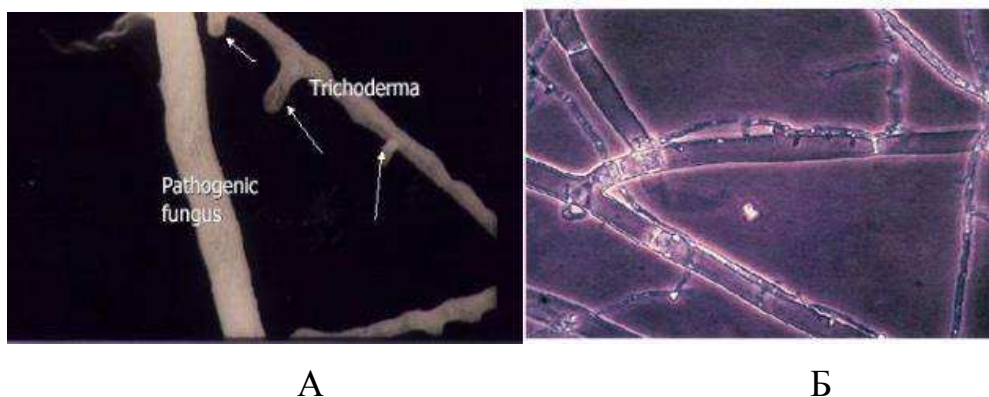


Рисунок 2. Микопаразитическое взаимодействие *Trichoderma* и *Rhizoctonia solani*. Хемотропизм (А), опознавание и обвивание (Б) (Harman, 2004).

При соприкосновении *Trichoderma* с гифами патогена, происходит гифы образование боковых ответвлений, спиралевидно обвивающих гифу патогена. Большинство коротких боковых отростков заканчиваются апрессориями, сильно присасывающихся к гифам патогена. Далее гифа патогена опутывается гифами *Trichoderma*, и происходит синтез ферментов, разрушающих клеточную стенку гриба-хозяина. В местах нахождения апрессорий имеются отверстия, через которые осуществляется проникновение гиф *Trichoderma* в полость гриба-мишени (Долинская, 2011).

1.7 Факторы среды, влияющие на рост микромицетов *Trichoderma*

Существует ряд внешних факторов, оказывающих влияние на эффективность роста микромицетов *Trichoderma*. Относительная влажность атмосферного и почвенного воздуха - один из основных факторов, способный влиять на произрастание спор и развитие вегетативной части грибов. При снижении уровня влажности субстрата уменьшается и скорость роста спор. При 20% влажности рост спор гриба не возможен (Алимова, 2006). Также очень важное условие - температура. Все изученные на данный момент виды *Trichoderma* по чувствительности к температуре можно определить к 3 типам: психрофилы, мезофилы и термотолерантные виды. Для психрофилов характерные границы выносливости: нижнее значение 4 и верхнее 30°C, для мезофилов 20° и 40°C, для термотолерантных видов максимальное значение может достигать 90°C. Температурные границы для развития грибов рода *Trichoderma* весьма широки: нижний предел, необходимый для начала роста, снижен по сравнению с другими почвенными грибами и может быть весьма лабильным для отдельных видов. Оптимальные температурные границы колеблются от 24° до 30°. При температуре более 32°C рост грибов замедляется и воздушный мицелий не образуется. Большинство микромицетов не проявляет активность при температурах ниже 10-15 °C. Однако у мезофилов при 5-6°C иногда наблюдается очень слабое развитие субстратного мицелия. Способность к росту при низких температурах

позволяет *Trichoderma* быть первой по развитию среди микромицетов в весенний период (Алимова, 2006). Реакция среды также является очень важным условием для нормального роста. Изменения в неблагоприятную сторону приводят к остановке роста организма даже тогда, когда остальные условия окружающей среды будут оптимальными. Накопление конечных продуктов метаболизма, развитие спороношения и активность ферментов также изменяется при изменении pH среды. Виды *Trichoderma* способны расти в широком диапазоне pH-фактора от 2,0-6,0 с оптимумом pH 4,0. Каждый представитель рода *Trichoderma* по-разному относятся к реакции среды культивирования (Wang, 2005). По данным G. E. Harman (1998), синтезированный им штамм *Trichoderma* T-22 имел одинаковую способность колонизировать корни и в щелочных и в кислых почвах. Не так давно было найдено наиболее благоприятное значение pH для роста томатов с микромицетами равное 5,45.

Помимо всего этого, грибы рода *Trichoderma* могут изменять pH почвы. Некоторые штаммы *Trichoderma harzianum* способны создавать оптимальные условия для своих ферментов и неблагоприятные для фитопатогенов, тем самым регулируя окружающую среду. Эта способность снижает заразность фитопатогенов, потому что большинство соединений (факторов патогенности) не может синтезироваться в широком диапазоне pH, и действует только в пределах очень узкого диапазона (Алимова, 2006). Различные штаммы подщелачивают или подкисляют среду в зависимости от веществ, которые содержатся в составе данной среды, что позволяет штаммам по-разному влиять на реакцию жидкой питательной среды в процессе роста и развития. (Сейкетов, 1982).

1.8 Влияние *Trichoderma* на почвенную микрофлору

Виды *Trichoderma* играют важную роль в формировании почвенных микробиоценозов и характеризуются высокой выживаемостью и

конкурентоспособностью в экологической нише благодаря своим ростовым характеристикам, физиологическим свойствам, спектру экзо- и эндо- метаболитов (Сейкетов, 1982). Антагонизм грибов *Trichoderma* к другим микроорганизмам может проявляться в нескольких формах: в виде образования антибиотиков, гиперпаразитизма, способности быстро метаболизировать субстрат, вытесняя другие медленно растущие микроорганизмы и конкуренции за субстрат (Алимова, 2005).

Грибы *Trichoderma*, искусственно введенные в почву, вступают в сложные взаимоотношения с почвенной микрофлорой. Несколько вариантов взаимодействия *Trichoderma* с почвенными представителями микрофлоры:

- угнетение - подавление роста микроорганизмов;
- стимуляция - стимуляция развития микроорганизмов;
- нейтральность – безразличное отношение микроорганизмов к присутствию *Trichoderma* (Сейкетов, 1982).

Есть данные, в которых показано, что штаммы грибов ограничивают линейный рост патогенов (Литовка, 2002)

Грибы *Trichoderma* имеют три формы антагонизма:

- способность быстро осваивать среду, вытеснять медленно растущие организмы;
- сверхпаразитическая активность;
- способность вырабатывать антибиотики (триховиридин, дермадин, виридин, глиотоксин, циклоспорин А и С, алламетицин, сокукалин, алламецин, трихолин А и В, обладающие противогрибковыми и антибактериальными свойствами). (Алимова, 2005)

Было показано, что взаимодействие на метаболическом пути основано на высвобождении различных антибиотиков и других летучих и нелетучих метаболитов. Взаимодействия субстратного типа основаны на паразитизме на других микроорганизмах, и в первую очередь на грибах. Они также могут конкурировать с другими микроорганизмами, например, за ключевые вещества, выделяющиеся семенами, и которые могут стимулировать

прорастание за другие питательные вещества и экологическую нишу. Кроме того, они ингибируют или разрушают ферменты других микроорганизмов (Harman, 2004). Было показано, что антагонизм в отношении *Trichoderma* приводит к уменьшению или даже уничтожению нежелательных микроорганизмов, в результате чего *Trichoderma* делит вокруг себя специфическую микрофлору (Алимова, 2006)

Г.Ш. Сейкетов (1982) показал, что взаимодействие *Trichoderma* с почвой вызывает изменения в микробном сообществе почвы: некоторые виды рода *Fusarium*, *Penicillium* и *Aspergillus* были чувствительны к интродуценту. Выявлено стимулирующее влияние *Trichoderma* на рост актиномецетов, diaзоторофов.

Радриш (Rudresh, 2005) изучал рост *Trichoderma* путем комбинированной инокуляции с азотфиксирующими симбиотрофическими (*Rhizobium*) и фосфат образующими микроорганизмами (*Bacillus megaterium*). Автор указали на связь нейтрального типа между *Trichoderma* и изученными бактериальными видами.

В случае Хуссейнса (Hussains 1990), нейтральные отношения также развиваются с бактериями, разрушающими целлюлозу. *Trichoderma*, как отмечается, увеличивает уровень азотфиксации, растворения фосфатов и целлюлолитическую активности в почве. Также эти грибы образуют ассоциации с азотофиксирующими грибами, что является причиной усиления азотфиксации. Грибы с высокой целлюлолитической активностью снабжают бактерии доступной энергией. Кроме того, из-за интенсивного потребления кислорода грибами при деструкции целлюлозы снижается окислительно-восстановительный потенциал среды, что также способствует фиксации азота. Таким образом, азотфиксирующая активность *Trichoderma hamatum* как части ассоциации составляет $87,2 * 10$ мг азота в 10 мл / г, а в чистой культуре образуется $29,7 * 10$ мг азота 10 мл/г (Алимова, 2006).

Также было показано, что при внедрении в агроэкосистему высокоактивных штаммов антагонистов рода *Trichoderma* оказывается

подавляющее воздействие на множество микроорганизмов, которые не являются целью биометода. Александрова (2000), Великанов (1997) и Сидорова (1998) определили, что в некоторых типах почв подавлялось разрушение почвы, что вероятно, связано с изменениями в структуре миксоценоза почвы. Так, Александрова (2000) обнаружила 67 видов на участках, не обработанных *Trichoderma harzianum*, а на участке, обработанном данными грибами идентифицировано только 37 видов. Исчезли грибы из подотдела *Ascomycotina*, стало меньше видов из подотдела *Zygomycotina*, а из подотдела *Deuteromycotina* пропали некоторые редкие виды. Полностью исчезли виды рода *Aspergillus*, отдельные представители рода *Fusarium*, *Paecilomyces lilacinus*, некоторые виды родов *Penicillium* и *Verticillium*. Отмечено меньше видов семейства *Dermatiaceae*.

Численность и разнообразие микробных клеток на экспериментальных участках меньше, чем на участке где грибы не вносились. Согласно фактическому анализу, *Trichoderma harzianum* на самом деле является фактором, который определяет комплекс микробных клеток (Алимова, 2005).

Как было уже сказано, введение *Trichoderma harzianum* привело к изменению структуры комплекса микромицетов, которые не являются объектами биологического контроля. Кроме того, самыми первыми исчезли редкие виды, что значительно сократило разнообразие видов. Это, в свою очередь, может привести к дисбалансу в сообществе и увеличению числа устойчивых форм микромицетов или патогенов, которые избегают конкуренции со стороны растений. Сокращение числа целлюлолитических грибов и темных гифомицетов, участвующих в образовании гумуса, также может привести к нарушению процессов почвообразования (Александрова, 2000). Аналогичные результаты были найдены и для черноземов, и для серых лесных почв. Наибольшее влияние на структуру почвенного микробиоценоза наблюдалось в обедненных серых почвах с содержанием гумуса менее 1%. В почвах с высоким содержанием органических веществ и пула микроорганизмов, интенсивность негативного влияния метаболитов на состав

и активность микробиоценоза значительно ниже. Вероятно, это связано с феноменом фунгистазиса по сравнению с интродуцентом.

Почвенные грибы рода *Trichoderma* также обладают высокой физиологической активностью и ингибируют рост ряда фитопатогенных грибов и грамположительных бактерий (Голованова, 2001). Летучие вещества, синтезируемые грибами рода *Trichoderma*, обладают физиологически-активными свойствами и более эффективно воздействуют на грибы и слабее на бактерии и актиномицеты (Великанов, 1997). В диких условиях возникает жесткая конкуренция за пищевые ресурсы и территорию между микропопуляциями. Представители рода *Trichoderma*, как и другие почвенные микроорганизмы, являются частью сложной системы взаимосвязанных звеньев биогеоценозов. Трудности, возникающие при изучении почвенных условий представителей *Trichoderma*, в определенной степени связаны с отсутствием методических возможностей для изучения грибов непосредственно в почвенных комплексах. Например, был разработан метод исследования грибковой конкуренции с использованием природных субстратов, содержащих известную биомассу каждого из двух видов, который показал результаты, отличные от таковых для двойных культур на питательной среде (Ward, 2006).

Разрабатываются новые методики исследования динамики численности и поведения видов *Trichoderma* в их естественной среде, особенно в почве. Например, метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) был разработан для количественного определения генетически модифицированного штамма *Trichoderma virens* в почве. Генетическая метка позволяет следить за динамикой развития внедряемого штамма (Baker, 2004).

О.А. Салина с соавторами (1981), в результате анализа большого количества образцов почвы и исследования связи грибов *Trichoderma* со многими почвенными организмами, указывают на способность представителей этих микроскопических грибов воздействовать на вид и количественный состав микроорганизмов. Смит (Smith, 1995) отмечает, что

виды *Trichoderma* – ключевые орфизмы лесных биоценозов благодаря их участию в круговороте питательных веществ и их способности образовывать мицелий.

Виды *Trichoderma* эффективно конкурируют за жизненное пространство благодаря своей способности секретировать противогрибковые антибиотики и токсины, а также миколитические ферменты (Howell, 2004). Но самым важным является паразитизм на других грибах, которые сосуществуют в естественных условиях. Паразитизм представителей род (Великанов, 1988).

Исследования нескольких авторов показали, что антибиотические и паразитарные эффекты грибов *Trichoderma* являются результатом особенностей штаммов, а также определяются комплексом внешних факторов (Салина, 1981). В работах А.И. Кустовой (1978) и Г.Ш. Сейкетова (1982) изучено воздействие различных факторов окружающей среды на накопление различных форм этого рода в почвах и проявления их жизненных функций. Были найдены оптимальные условия (температура и влажность) для роста и успешной конкуренции *Trichoderma harzianum* в загрязненной почве. Для роста оптимальным температурным режимом является 15-21° С, влажность же показала широкий диапазон (Eastbum, 1991).

Грибы могут быть связаны не только с почвенными микроорганизмами и растениями, но и с жизнедеятельностью беспозвоночных. Так *Trichoderma Viride* входит в питание клещей, обитающих в лесной подстилке, несмотря на то, что большинство клещей и коллембол предпочитают подстилочные гифомицеты *Alternaria alternata* и *Trichoderma harzianum*, а не гриб, образующий везикулярную арбускулярную микоризу *Glomus macrocarpum* (Kendrick, 1996). Великанов (2000) получил симбиотические сообщества микоризных грибов рода *Trichoderma*. Браунолд показывал, что *Trichoderma harzianum* не токсичен для пчел и может использоваться в качестве средства для борьбы с фитопатогенными грибами. Они использовали *Trichoderma harzianum*, чтобы сделать препарат *Trichodex*. Пчелы *Apis mellifera* перетаскивали с 60 по 1575 спор из ульев, куда вносился биопрепарат на

цветах клубники, что позволяет эффективно контролировать жизнеспособную активность фитопатогенного гриба *Botrytis cinerea*.

Внесение в почву биопрепаратов на основе антагонистических микроорганизмов значительно снижает количество фитопатогенных грибов в ризосфере растений и приводит к оздоровлению (Новикова, 2017). Было показано, что антагонизм *Trichoderma* приводит к снижению числа и даже уничтожению нежелательных микроорганизмов. Также, *Trichoderma* выделяет вокруг себя специфическую микрофлору (Knudsen, 1991).

В ходе изучения механизма было установлено, что штамм *Trichoderma* растет в почве в виде сапрофита или микопаразита.

Летучие вещества, синтезируемые грибами *Trichoderma*, обладают физиологически-активными свойствами и более эффективно воздействуют на грибы, а также слабее на бактерии и актиномицеты (Великанов, 1997).

1.9 Влияние *Trichoderma* на рост и развитие растительных организмов

Согласно последним открытиям, грибы *Trichoderma* являются условно-патогенными, не вирулентными растительными симбионтами, а также паразитами других грибов. По крайней мере, некоторые штаммы устанавливают стабильную и длительную колонизацию поверхностей корней и проникают в эпидермис. Эти ассоциации корневых микроорганизмов вызывают значительные изменения в протеоме растений и обмене веществ. Они продуцируют различные соединения, которые вызывают местные или системные иммунные реакции, что объясняет их отсутствие патогенности для растений (Reino, 2008). Согласно опубликованным данным, *Trichoderma* может секретировать ауксины (индол-3-уксусная кислота, индол-3-ацетальдегид и индол-3-этанол), гиббереллины, цитокинины, абсцизовую кислоту и этилен, которые являются растительными гормонами и отвечают за рост и развитие растений, созревание цветов и плодов, увядание (Корнилова, 2011). А также различные органические кислоты, внутриклеточные аминокислоты, витамины и более 100 антибиотиков (Гнеушева, 2010).

Фитогормоны *Trichoderma* (цитокинины), которые отвечают за стимуляцию физиологических процессов растений, попадают в организм растения и позволяют ему активней развиваться (Гнеушева, 2010). Кроме того, благодаря производству различных веществ триходермой растения защищены от большинства растительных патогенов.

Колонизация корней триходермой часто увеличивает рост и развитие корней, урожайность, дает устойчивость к абиотическому стрессу, улучшает всасывание и регулирует потребление питательных веществ (Harman, 2004).

Введение грибов рода *Trichoderma* также оказывает существенное влияние на продуктивность растений и повышает их резистентность к стрессовым факторам, например, тяжелым металлам, высокой температуре и другим (Голованова, 2015).

Продукты жизнедеятельности грибов *Trichoderma* способны улучшать обмен веществ в растениях, увеличивать скорость прорастания семян. Стимулирующие свойства различных представителей рода *Trichoderma* проявляются избирательно в зависимости от вида, сорта растения и штамма используемого микроорганизма (Долинская, 2011).

Доказано, что предпосевная обработка семян спорами *Trichoderma asperellum* увеличивала их всхожесть и энергию прорастания, увеличивала количество листьев, длину надземной части и корневую систему, способствовала накоплению растением биомассы и положительно влияла на площади листовых пластинок. Однако эти проявления результат более глубоких изменений, происходящих в растении. Следует учитывать, что существует прямое взаимодействие между этими микроорганизмами и тканями зависящего растения (Голованова, 2005).

1.10 Влияние *Trichoderma* на почву

Было изучен рост гриба *Trichoderma harzianum* на нерастворимых или плохо растворимых минералах *in vitro*. Существует три варианта растворения подобных веществ: подкисление среды, образование хелатных метаболитов и

окислительная активность. Этот штамм обладает способностью растворять MnO_2 , ионы цинка и неорганический фосфат (фосфат кальция) в жидкой среде, содержащей сахарозно-дрожжевой экстракт. рН культур никогда не опускался ниже рН 5,0 и в культуре с MnO_2 , рН находился в диапазоне от 6,8 до 7,4. Fe_2O_3 , MnO_2 , Zn и неорганический фосфат растворялись. Все эти процессы также играют роль в биоконтроле патогенных растений в различных условиях окружающей среды (Алимова, 2005).

При исследовании влияния разных видов обработки почвы для роста штаммов *Trichoderma*, лучшие результаты показала традиционной обработка почвы минеральными удобрениями (Harman, 1998). При изменении уровня углерода и азота, фосфора и плотности почвы результаты сохранялись.

Trichoderma atroviride способны выделять ферменты, солюбилизирующие каменный уголь и частично гуминовую кислоту из различных субстратов. Такое разнообразие биохимических и биологических свойств открывает новые перспективы для обогащения каменных углей (Алимова, 2006).

1.11 Биологическая защита растений

Большинство штаммов обладающие антагонистической активностью в отношении ряда фитопатогенов используется для получения фитофармацевтических продуктов на основе грибковых клеток *Trichoderma*. (Корнилова, 2010)

Биологический метод борьбы с вредителями растений был предложен в прошлом веке, но он не получил такой же перспективы, как химический метод, который не позволял развиваться альтернативным методам. Последние достижения в области биотехнологии вызвали большой интерес к биологическому методу. Благодаря большому спектру преимуществ: высокая скорость роста, высокая выживаемость в неблагоприятных условиях, сильный антагонизм против большинства патогенных грибов и эффективность в стимулировании роста растений и улучшения защитных механизмов растений,

препараты на основе *Trichoderma* являются самыми популярными на сегодняшний день биологическим средством борьбы с наиболее распространенными патогенами растений. (Корнилова, 2010). Грибы - *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride* – являются самыми важными организмами в защите растений от фитопатогенов. Все органические продукты на основе этих грибов в России называются триходермином, их состав варьируется в зависимости от исходного штамма, питательного состава и способа выращивания, а также от названия готового продукта (Алимова, 2006). Первый отечественный грибковый препарат против болезней растений был разработан на основе *Trichoderma Viride* (Штерниш, 2004). На сегодняшний день микробиологические препараты считаются самым важным средством защиты растений от вредителей и болезней в сельском хозяйстве. Триходермин получают на основе выращивания грибов на различных природных субстратах: отходы пищевой или перерабатывающей промышленности (древесные гидролизаты, меласса, бард, измельчители соломы, пшеничные отруби) (Громовых, 2002). Основным преимуществом этих средств является их безопасность для человека, окружающей среды, домашних и диких животных, насекомых (опылителей, энтомофагов) и других представителей биоценоза (Калмыкова, 2017).

Биологические фунгициды (антибиотики) - это биологически активные вещества органического происхождения, которые подавляют жизнедеятельность и вызывают гибель вредных микроорганизмов. Они производятся микроорганизмами (бактериями, актиномицетами, грибами), а также растениями и животными. Действует избирательно на растительные патогены. После проникая в корни и листья, они распространяются по тканям растений и придают организму антибиотическую активность. Эти вещества изменяют метаболизм растений, тем самым улучшая их резистентность к патогенным микроорганизмам. Многочисленными исследованиями было показано, что микробные препараты положительно влияют на морфологические параметры изучаемых растений: накопление белков,

углеводов и пигментов. Эти препараты также могут увеличивать всхожесть семян, стимулировать рост растений и ускорять формирование корней (Мякинькова, 2014).

Триходермин, изготовленный из почвенной *Trichoderma lignorum*, широко применяется в производственных условиях. При удобрении почвы культурой этого гриба заметно уменьшается развитие возбудителей корневых гнилей у злаковых, вилты хлопчатника, ризоктониоза картофеля (Попкова, 2005).

В природных условиях были обнаружены микроорганизмы (бактерии, грибы) имеющие способность паразитировать на фитопатогенах. Идентифицированные паразитические организмы были определены как гиперпаразиты или паразиты второго порядка. Механизм их действия довольно разнообразен: они могут вызывать лизис или растворение клеток-хозяев, продуцировать биологически активные вещества, которые могут ингибировать патогены. В этом случае гиперпаразиты обладают теми же свойствами, что и антагонисты. Чёткой разницы между гиперпаразитизмом и антагонизмом не найдено, потому что антагонист зачастую проявляет себя как паразит второго порядка. Несмотря на то, что *Trichoderma lignorum* выделяет много активных антибиотиков (глитоксины, виридины, и т.д.), показывая свою антагонистическую активность, он также может паразитировать на склероциях некоторых патогенных грибов, демонстрируя свойства паразита второго порядка (Попкова, 2005).

1.12 Влияние *Trichoderma* на злаковые культуры

Исследования показали, что штаммы рода *Trichoderma*, в зависимости от вида, оказывают как стимулирующее, так и ингибирующее влияние на энергию прорастания и всхожесть семян, а также биометрические показатели проростков злаковых культур (Гайдашева, 2011).

Как показали исследования Бондарь П.Н. (Бондарь, 2011), в случае ячменя наблюдается значительное увеличение по сравнению с контролем по

трем из шести показателей (количество зерен на колос, количество растений к уборке, и их урожайность), а в случае пшеницы только на два (количество зерен на колос и масса 1000 зерен).

Оценка внутреннего заражения семян полученного зерновой культуры, выращиваемой с использованием триходермина-М, показала 1,3-кратное снижение фитопатогенной инфекции в эксперименте с пшеницей и 2-кратное снижение в эксперименте с ячменем по сравнению с контрольными вариантами (Бондарь, 2011).

1.13 Биопрепараты

В настоящее время производятся и широко применяются различные виды биологических препаратов на основе бактериального и грибкового происхождения.

В зависимости от эффекта биопрепараты подразделяются на следующие группы:

- Ограничивающие распространение вредителей и болезней. Так бактерии рода *Pseudomonas*, способные за короткое время поглощать ионы железа и превращать их в сидерофоры, сложно доступные для организмов вредителей. На их основе производятся препараты: ризоплана, псевдобактерин.
- Суперпаразитарные, то есть на основе паразитов второго порядка. Например, пикнидиальный гриб *Cicinobolus cesati* паразитирует на возбудителях мучнистой росы, а бактерии рода *Pseudomonas* на грибах рода *Fusarium*. Производится пентафаг - препарат пяти бактериофагов - гиперпазитов фитопатогенных бактерий.
- Антибиотики, токсиканты и антифиданты, продукты метаболизма микроорганизмов с нейротоксичным или репеллентным воздействием подавляют активность других микроорганизмов. Примеры: агравертин, фитовер-м, трихотецин, фитофлавин (Попкова, 2005).

Внесением специальных биопрепаратов, представляющих собой чистую культуру или компост, насыщенный микроорганизмами, улучшают свойства почвы. Твёрдые и жидкие среды используются для искусственного размножения антагонистических микроорганизмов. Антибиотики являются одними из самых эффективных агентов в борьбе с патогенными микроорганизмами, но их следует применять в низких концентрациях, безопасных для растений, животных и людей.

Антибиотики должны соответствовать следующим требованиям:

- активное воздействие против возбудителя заболевания;
- способность легко проникать в растительную ткань;
- поддержание биологического эффекта в растительной ткани в течение определенного периода времени;
- безопасность терапевтических доз для растений.

Основные методы применения антибиотиков: обработка семян и посадочного материала, опрыскивание растений, нанесение на почву. Эти методы основаны на подавлении роста или уничтожении фитопатогенных организмов на поверхности или в растительной ткани (Попкова, 2005).

Антибиотики поглощаются корнями, листьями, стеблями и быстро распространяются по всему растению и задерживаются в тканях организма в течение длительного времени - до 20-30 дней. Некоторые антибиотики оказывают системное иммунное влияние на растительный организм, значительно повышая его устойчивость к болезням. Кроме того, эти вещества не только предотвращают развитие болезни, но и излечивают растения (Попкова, 2005).

1.14 Биопрепараты на основе бактерий рода *Bacillus*

Использование бактерий для обработки семян или растений с целью повышения устойчивости к патогенам и улучшение продуктивности считается областью, связанной с экологически безопасными технологиями производства продуктов питания. Бактерии бактерий *Bacillus* являются довольно

перспективными агентами для биоконтроля заболеваний растений благодаря их природному антагонизму против многих фитопатогенных грибов, будучи продуцентами фитогормонов, они обладают способностью мобилизовать фосфаты, имеют отличную адаптивность и способны выживать в неблагоприятных условиях. Также наблюдалось явление индукции защитных реакций растений пшеницы на воздушно-капельные инфекции, вызванные обработкой антагонистическими бациллами перед посевом семян. Однако использование бактериальных препаратов в сельскохозяйственной практике зачастую малоэффективно. Основной причиной слабой эффективности является отсутствие достоверных знаний о поведении палочек в ризосфере обработанных растений (Кузьмина, 2014).

Применение биологических препаратов на основе антагонистических бактерий значительно увеличивает количество урожая. Стимулирующий рост эффект использования бактерий проявляется в увеличении листьев и в накоплении сухой и влажной растительной массы. Небольшие полевые эксперименты с более ранней обработкой семян клеточными препаратами и бактериальными продуктами метаболизма также показали увеличение продуктивности растений. Урожай пшеницы увеличивался на 40-70% в зависимости от применяемой дозы препаратов. Увеличение урожайности заключалось в увеличении количества подгона (в среднем на 62%), массы семян при посадке растения (93%), количества колосков (6%) и семян (15%) в основном колосе, а также масса 1000 семян (7%) (Кузьмина, 2014).

Предпосевная обработка семян антагонистическими палочковидными бактериями вызывает модификацию фитогормонального состояния растений, что приводит к значительному увеличению содержания ауксинов и цитокининов (Мелентьев, 2000). Цитокинины выполняют ряд важнейших функций в клетках растений и участвуют в регуляции процессов развития растений. Большинство растительных цитокининов могут иметь экзогенное происхождение из-за их образования эпифитными и ризосферными микроорганизмами. Первая обнаруженная цитокинин-синтезирующая

бактерия - *Agrobacterium tumefaciens*. Несмотря на то, что растения способны синтезировать цитокинины, присутствие цитокинин-продуцирующих микроорганизмов в ризосфере растений может увеличивать концентрацию этих гормонов в почве и растениях, таким образом, влиять на рост растений. Введение штамма *Bacillus subtilis* в ризосферу растений салата привело к значительному накоплению цитокининов в растениях и увеличению биомассы побегов (Архипова, 2006).

В результате, даже кратковременное присутствие цитокинино-продуцирующих микроорганизмов в ризосфере растений (вследствие последующего вытеснения микроорганизмов, интродуцированных через местную микрофлору) имеет значительные положительные последствия для роста и урожайности вследствие притока цитокининов в растение, также стимулирует выработку эндогенных фитогормонов и создает поддерживающее сообщество микроорганизмов (Кузьмина, 2014).

Стоит добавить, что большинство антагонистических палочек способны продуцировать комплекс миколитических ферментов, включая хитиназу, р-1,3-глюканазу и хитозаназу (Мелентьев, 2000).

Доказано, что во время обработки семян пшеницы бактериями рода *Bacillus* колонизация поверхности прорастающих семян и образование корней происходит путем образования микроколоний, состоящих из нескольких бактериальных клеток. Микроколонии связаны с эпидермальным слоем особым материалом, аналогичным гликокаликсу. Одиночные клетки развивающихся бактерий попадают в утолщенную кожуры семян и калеоризу, и имеют воздействие слабого патогена. Из-за особенностей корневой системы популяции растений пшеницы, существуют различия в типах её заселения. Бактерии рода *Bacillus* отличаются заселением всей корневой системы, включая молодые фрагменты в апикальной части корня, но на расстоянии не более 10 см от основания (Мелентьев, 2000).

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 Объекты исследования

В качестве объекта исследования использовали растения *Avena Sativa*.

По систематическому положению *Avena Sativa* относится к:

Отделу Цветковые - *Magnoliophyta*

Классу Однодольные - *Liliopsida*

Порядку Злакоцветные - *Poales*

Семейству Злаки - *Poaceae*

Роду Овёс - *Avena*

Однолетнее травянистое растение высотой 50—170 см, всегда с голыми узлами. Корень мочковатый. Стебель — соломина 3—6 мм в диаметре, с двумя — четырьмя узлами. Листья очередные, зелёные или сизые, линейные, влагалищные, шероховатые, 20—45 см длины и 8—30 мм ширины. Цветки мелкие, собраны по 2—3 в колоски, образующие раскидистую, реже однобокую метёлку до 25 см длиной. Колоски средней величины, двух-трёхцветные; цветки только нижние с остью, реже все безостые. Чешуя колоска до 25 мм длиной, немного длиннее цветка. Все цветки в колоске без сочленений; ось колоска голая. Нижняя цветочная чешуя ланцетная, около 20 мм длиной, на верхушке двузубчатая, большей частью голая, при основании с немногими волосками или вся голая; ость немного согнутая, или прямая, или отсутствует. Цветёт в июне — августе. Плод — зерновка (Плантариум, 2020).

Для исследования были отобраны семена без видимых повреждений в количестве 175 штук.

В качестве контроля были растения, семена которых не обработаны биопрепаратами.

Опытные варианты – растения, семена, которых были обработаны биопрепаратами: либо «ТРИХОДЕРМА ВЕРИДЕ», либо «СПОРОБАКТЕРИН – РАССАДА», использованные в разных концентрациях (табл.1).

Семена растений предварительно замачивали в растворе, содержащем биопрепарат в течение 1-2 часов, с последующим просушиванием в тени, затем семена помещали в емкости с почвой.

Таблица 1 — Концентрация биопрепаратов, используемых в работе

Варианты эксперимента	Используемые биопрепараты	Содержание биопрепарата, мг/мл
Контроль	Дистиллированная вода	0
Вариант 1	«ТРИХОДЕРМА ВЕРИДЕ»	5,8
Вариант 2	«ТРИХОДЕРМА ВЕРИДЕ»	7,5
Вариант 3	«ТРИХОДЕРМА ВЕРИДЕ»	6,7
Вариант 4	«СПОРОБАКТЕРИН – РАССАДА»	10
Вариант 5	«СПОРОБАКТЕРИН – РАССАДА»	6,2
Вариант 6	«СПОРОБАКТЕРИН – РАССАДА»	3,8

«СПОРОБАКТЕРИН – РАССАДА, СП» - биологический фунгицид для защиты растений от грибных и бактериальных болезней»;

«ТРИХОДЕРМА ВЕРИДЕ ДЛЯ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ ОТ БОЛЕЗНЕЙ» - биопрепарат полезных почвенных грибов, созданный на основе ШТАММа 471, титр 10^9 . Производитель ООО “Ваше хозяйство”.

2.1.1 Описание гриба *Trichoderma*

Основу препарата «ТРИХОДЕРМА ВЕРИДЕ ДЛЯ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ ОТ БОЛЕЗНЕЙ» составляют споры штамма *Trichoderma Viride*.

Колонии данного штамма растут на стандартной среде Чапека при температуре 22°C, достигая краёв чашки Петри за 4-5 дней. Мицелий бесцветный, стелющийся, паутинистый, иногда довольно плотный, ватообразный, достигающий 5 -7 мм в высоту. Спороношение появляется на 4 - 6 день роста у одних изолятов в виде небольших, круглых, выпуклых

подушечек 0,5 - 2 мм, у других в виде плоских, сливающихся подушечек разной формы и величины, от 1 до 12 мм в диаметре, расположенных равномерно, в центре или по краю колонии, но чаще всего концентрическими зонами. Также, отдельные конидиеносцы могут возникать в воздушном мицелии. Подушечки иногда окружены белой каемкой стерильного мицелия. Цвет от зеленого (Е5 и Е3) и зелено-малахитового (И7) до темно-зеленого (Ж7), иногда синевато-зеленый (Б2) по шкале цветов Бондарцева (1954). Обратная сторона колонии бесцветная или серовато-зеленоватая. Пигмент в среду не выделяется. Экссудат бывает у некоторых изолятов. Запах от слабого плесневого до довольно резкого, часть изолятов имеет запах напоминающий кокосовый. Гифы бесцветные, гладкие 2-4 нм в диаметре. Погруженный мицелий более толстый, до 8 нм шириной, с вздутиями и толстостенными клетками. Хламидоспоры у большинства изолятов отсутствуют, если есть, то в небольшом количестве, типичные для *Hypocreaceae*, терминальные или интеркалярные, округлые до овальных, гладкостенные, светло-зеленые 8-15 нм в диаметре. Конидиеносцы извилистые, неокрашенные, гладкие, 2,5-4 нм в диаметре и очень разнообразны по длине, 15-100 нм. Ветвятся часто, но нерегулярно, веточки расположены по две-три, редко по одной. У изолятов с выпуклыми подушечками у части конидиеносцев верхушка иногда бывает согнутой и стерильной. Фиалиды расположены прямо на конидиеносце или на веточках мутовками по 2-3, реже по одиночке. Бутылевидные, цилиндрические или слегка вздутые часто согнутые 7-10x3-4.5 нм, терминальные немного длиннее до 13 нм. Шейка вытянутая узкая, короткая, обычно согнутая, 0,5-1.5 нм в длину. Конидии собраны в слизистые головки, округлые или слегка вытянутые 3,5-6x3-5,5 нм, характеризуется явной бородавчатостью. На сусло-агаре колонии развивают более плотный и обильный воздушный мицелий. Спороношение появляется позже на 6 - 8 день в воздушном мицелии и конидиальных подушечках. В остальном заметных отличий нет (Александрова, 2003). *Trichoderma Viride* встречается повсеместно.

Отмечается как космополит во всех частях света. Обитает в почве, на мертвой древесине и коре, растительных остатках и многих других субстратах (Domsch et al., 1980).

2.1.2 Описание бактерий *Bacillus Subtilis*

Основу биопрепарата «СПОРОБАКТЕРИН – РАССАДА» составляют бактерии *Bacillus Subtilis*.

Это палочковидная бактерия, размер 2—5 × 0,4-0,6 мкм. Споры овальные, не превышающие размер клетки, расположены центрально. Перитрихиальное расположение жгутиков, подвижная. Колонии сухие, мелкоморщинистые, бархатистые, бесцветные или розовые. Край колонии волнистый. Растёт на МПА, МПБ, а также на средах, содержащих растительные остатки, простых синтетических питательных средах для гетеротрофов. Хемоорганогетеротроф, аммонифицирует белки, расщепляет крахмал, гликоген. Развивается при температуре +5...+45 °С.

Встречается повсеместно в почве, в воздушной пыли. Выделяют кипячением настоя сена, при котором споры сенной палочки выживают. Приводит к порче некоторых пищевых продуктов (Veranova, 2011).

2.2 Методы исследования

2.2.1 Условия выращивания растений

В качестве питательного грунта использовали - «ГРУНТ ПИТАТЕЛЬНЫЙ С МИКРОЭЛЕМЕНТАМИ С ПОВЫШЕННЫМ СОДЕРЖАНИЕМ ОРГАНИЧЕСКИХ КОМПОНЕНТОВ» (табл.2).

Таблица 2 — Содержание доступных для растений питательных элементов (мг/кг)

N	P ₂ O ₅	K ₂ O	pH
350	400	500	6-7

Состав грунта: торф верховой, торф низинный, песок, мука известковая (доломитовая), комплексное минеральное удобрение.

Растения выращивали при естественном освещении, средний уровень облученности $300 \text{ мкмоль фотонов} \times \text{м}^{-2} \times \text{с}^{-1}$; относительная влажность воздуха $75 \pm 3\%$; температура воздуха $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Для полива использовали отстоянную водопроводную воду, поддерживая относительную влажность почвы на уровне 60%.

2.2.2 Определение морфофизиологических параметров растений

Всхожесть и энергию прорастания семян *Avena Sativa* определяли на 3 и 7 сутки согласно ГОСТ 12038-84 (ГОСТ 12038-84, 2011).

Ростовые параметры определяли на 21 и 28 сутки развития растения (рис.3).



Рисунок 3. Внешний вид растений на 21 сутки исследования.

Длину надземной и корневой систем целого растения определяли с помощью линейки (рис.4).



Рисунок 4. Измерение длины растения.

Сырую биомассу растений находили взвешиванием на аналитических весах. Сырую биомассу высушивали до абсолютно сухого веса в сушильном шкафу при температуре 105°C в течение одних суток.

2.2.3 Определение содержания фотосинтетических пигментов

Содержание пигментов определяли спектрофотометрическим методом по молярным коэффициентам экстинкции.

Для определения содержания фотосинтетических пигментов навеску сырого растительного материала помещали в емкость и заливали десятикратным количеством 96% раствора этанола, ставили на водяную баню ($t=65^{\circ}\text{C}$) на 30 минут, затем помещали в холодильник для полного извлечения пигментов. Определение оптической плотности экстракта осуществляли на спектрофотометре (Spekol 1300), обладающем достаточной разрешающей способностью (рис.5) при длинах волн (нм): 470; 648.6; 664.2; 720.

Концентрацию пигментов в спиртовой вытяжке рассчитали согласно Н. К. Lichtenthaler (Lichtenthaler, 1987):

$$C_a = 13,36 \times (D_{664,2} - D_{720}) - 5,19 \times (D_{648,6} - D_{720})$$

$$C_b = 27,43 \times (D_{648,6} - D_{720}) - 8,12 \times (D_{664,2} - D_{720}),$$

$$C_{\text{кар}} = (1000 \times (D_{470} - D_{720}) - 2,13C_a - 97,64 \times C_b) / 209, \text{ где}$$

C_a – концентрация хлорофилла, a (мкг/мл), C_b – концентрация хлорофилла b (мкг/мл), $C_{\text{кар}}$ – концентрация желтых пигментов (мкг/мл), D – оптическая плотность раствора при заданной длине волны.

D_{720} – использовали для оценки мутности экстракта.



Рисунок 5. Spekol 1300

Содержание пигментов рассчитывали по формуле:

$$M = \frac{C * P * V}{m},$$

где C – концентрация пигментов (мкг/мл), V – объем раствора (мл); P – разведение; m – биомасса растений (мг).

2.2.4 Определение фотосинтетической активности листьев

Чтобы выяснить механизм действия биопрепаратов на продуктивность растений, необходимо определить его влияние на первичные процессы фотосинтеза (ППФ). На сегодняшний день параметры флуоресценции, как индикаторы состояния и эффективности функционирования фотосинтетического аппарата активно используются в фундаментальных и

прикладных исследованиях. В основе метода лежит - снижение эффективности накопления света во время фотосинтеза приводит к увеличению интенсивности флуоресценции (Krause, Weis, 1991).

Об фотосинтетической активности листьев растений судили по скорости электронного потока и квантовому выходу. Для их определения использовали флуориметр JUNIOR-PAM (Walz, Effeltrich, Germany) и программу WinControl-3 в режимах записи «Световая кривая» и «Индукция» (рис.6).



Рисунок 6. Прибор IMAGING-PAM M Series MAXI Version.

Световую кривую регистрировали в диапазоне $(66-828) \times 10^{-6}$ М фотонов \times м $^{-2}$ \times с $^{-1}$, индукционную кривую – при световой облученности 420×10^{-6} М фотонов \times м $^{-2}$ \times с $^{-1}$. Максимальный квантовый выход ФС2 $(Y_{II})_m$ рассчитывали на основе нулевого F_0 и максимального F_m уровней (Kitajima, Butler, 1975):

$$Y(II)_m = (F_m - F_0) / F_m.$$

Скорость фотосинтетического транспорта электронов (ETR, мкмоль электронов \times м $^{-2}$ \times с $^{-1}$) определяли по уравнению:

$$ETR=Y(II)\times ETR_{factor}\times I_{PAR}\times 0.5,$$

где $Y(II)$ квантовый выход ФС2 равный $(F_m - F')/F_m$, F_m – максимальный уровень флуоресценции в условиях насыщающей вспышки света при заданном уровне световой энергии, F' – уровень непосредственно перед насыщающей вспышкой, ETR_{factor} – эффективность поглощения света листовой пластинкой, обычно принимают равным 0.84, I_{PAR} – световой поток в области ФАР ($\mu\text{моль фотонов}\times\text{м}^{-2}\times\text{с}^{-1}$), 0.5 – доля хлорофилла a в составе ФС2 (Ritchie, 2008). Программное обеспечение JUNIOR-PAM позволяет определить: α – тангенс угла наклона световой кривой на линейном начальном участке (квантовый выход фотосинтеза электрон/фотон); ETR_m – максимальную скорость транспорта электронов ($\times 10^{-6}$ М электронов $\times\text{м}^{-2}\times\text{с}^{-1}$); E_k – минимальную насыщающую I_{PAR} ($\times 10^{-6}$ М фотонов $\times\text{м}^{-2}\times\text{с}^{-1}$) (Jassby, Platt, 1976).

Измерения морфологических и биофизических параметров проводили на 21-е и 28-е сутки вегетации растений. Измерение параметров растений выполняли в 3-6 биологических поверхностях.

2.2.5 Статистическая обработка материалов

Достоверность различий средних определяли на основе критерия Стьюдента ($p < 0.05$). Количественные данные представлены как $M \pm m$.

Статистическая обработка данных и построение графиков и диаграмм было произведено при помощи пакета программ Microsoft Excel 2013.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

1. Биопрепараты «СПОРОБАКТЕРИН – РАССАДА» и «ТРИХОДЕРМА ВЕРИДЕ» оказывали положительное влияние на грунтовую всхожесть семян *Avena Sativa*. Всхожесть семян у опытных растений была несколько выше по сравнению с контрольным вариантом. Данный положительный эффект наблюдался в зимний и летний периоды, полученные данные, не были достоверны.

2. Биопрепараты «СПОРОБАКТЕРИН – РАССАДА» и «ТРИХОДЕРМА ВЕРИДЕ» оказывали неоднозначное влияние на ростовые процессы *Avena Sativa* их действие зависит от концентрации и наибольшее положительное влияние данных препаратов проявляется на развитие корневой системы. Наиболее эффективен был препарат «СПОРОБАКТЕРИН – РАССАДА» при концентрации 10 мг/мл.

3. Влияние биопрепаратов «ТРИХОДЕРМА ВЕРИДЕ» и «СПОРОБАКТЕРИН – РАССАДА» на накопление биомассы растения *Avena Sativa* было достоверным. Разные концентрации биопрепарата влияли по-разному в летний и зимний период, поэтому наиболее эффективное воздействие выделить не удалось. Действие биопрепаратов на накопление сухого вещества не однозначны

4. Биопрепараты оказывали достоверное стимулирующее влияние на накопление сырой биомассы растениями как в летний, так и зимний периоды. Действие препарата «ТРИХОДЕРМА ВЕРИДЕ» было более эффективно, чем «СПОРОБАКТЕРИН – РАССАДА».

5. Биопрепараты «СПОРОБАКТЕРИН – РАССАДА» и «ТРИХОДЕРМА ВЕРИДЕ» оказывали положительное влияние на содержание зеленых пигментов, причем их накопление происходило за счет

увеличения хлорофилла *a*, и достоверно увеличивали содержание желтых пигментов.

6. Биопрепараты оказывали достоверное положительное влияние на скорость электронного потока и квантовый выход растений, как в зимний, так и летний периоды. Наиболее эффективным было действие «ТРИХОДЕРМА ВЕРИДЕ» в концентрации 7,5 мг/мл

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Александрова А.В. Первая находка *Trichoderma satumisporum* в России / А.В. Александрова, Великанов Л.Л. // Микол. и фитопатол. – 1999. – Т. 33, вып. 5. – С. 304-306.

Алимова Ф.К. Промышленное применение грибов рода *Trichoderma* / Ф.К. Алимова - Казань: Казанский государственный университет им. В.И. Ульянова-Ленина, 2006.

Алимова Ф.К. *Trichoderma*/Нуростреа (Fungi, Ascomycetes, Нуростреалес): таксономия и распространение / Ф.К. Алимова - Казань: Казанский государственный университет им. В.И. Ульянова-Ленина, 2005.

Архипова Т. Н. Сравнение действия штаммов бактерий, различающихся по способности синтезировать цитокинины, на рост и содержание цитокининов в растениях пшеницы // Физиология растений. – 2006. – Т. 53. – №. 4. – С. 567-574.

Бондарь П. Н. Штаммы грибов рода *Trichoderma* (Pers. Fr.) как основа для создания биопрепаратов защиты растений и получения кормовых добавок дисс.. канд. биол. наук 03.01. 06 ПН Бондарь-Красноярск, 2011.-220

Великанов Л.Л. Роль грибов в формировании мико- и микробиоты почв естественных и нарушенных биоценозов и агроценозов. Дисс... д.б.н. – М., 1997. – 547 с. 201. Великанов Л.Л. Сравнение гиперпаразитической и антибиотической активности изолятов рода *Trichoderma pers.: Fr.* и *Gliocladium virens* Miller, Giddens et Foster по отношению к патогенам, вызывающим корневые гнили гороха / Л.Л. Великанов, Е.Ю. Сухоносенко, С.И. Николаева, И.Л. Завелишко // Микология и фитопатология. – 1994. – Т. 28. – Вып. 6. – С. 52-56. 202.

Великанов Л.Л. Сравнение гиперпаразитической и антибиотической активности изолятов рода *Trichoderma pers.: Fr.* и *Gliocladium virens* Miller, Giddens et Foster по отношению к патогенам, вызывающим корневые гнили гороха / Л.Л. Великанов, Е.Ю. Сухоносенко, С.И. Николаева, И.Л. Завелишко // Микология и фитопатология.

Гайдашева И.И., Садыкова В.С., Бондарь П.Н., Зобова Н.В., Громовых Т.И. Перспективы использования новых биопрепаратов для защиты злаков в Средней Сибири // Вестник КрасГАУ. - 2008.

Гнеушева И. А., Павловская Н. Е., Яковлева И. В. Биологическая активность грибов рода *Trichoderma* и их промышленное применение // Вестник аграрной науки. – 2010. – Т. 24. – №. 3.

Голованова Т. И., Валиулина А. Ф., *Trichoderma* как агент защиты растений в условиях стресса. – 2015.

Голованова Т.И., Долинская Е.В., Сичкарук Е.А. Взаимоотношения почвенного гриба *Trichoderma* и яровой пшеницы // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. Красноярск. 2009. Т. 7. С. 102–107.

Голованова Т. И. Взаимоотношения пшеницы с микроскопическими грибами // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2010. – №. 9.

Громовых Т.И., Гукасян В.М., Голованова Т.И., Шмарловская С.В. *Trichoderma harzianum* Rifai aggr. как фактор повышения устойчивости томатов к возбудителям корневой гнили // Микология и фитопатология. – 1998. – Т.32. – Вып.2. – С. 73-78.

Громовых Т.И. Фитопатогенные микромицеты сеянцев хвойных в Средней Сибири: видовой состав, экология, биологический контроль // Автореф. диссертации... доктора биологических наук. – Москва, 2002.

Долинская Е.В. Влияние грибов *Trichoderma asperellum* на физиологобиохимические процессы растений пшеницы: Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Е.В. Долинская - Красноярск, 2011.

Корнилова Н. А., Марквичёв Н. С. Ростостимулирующее действие грибов рода *Trichoderma* // Успехи в химии и химической технологии. – 2011. – Т. 25. – №. 10 (126).

Кузьмина Л. Ю., Архипова Т. Н. Колонизация ризосферы пшеницы штаммами *Bacillus subtilis* с различным уровнем продукции цитокининов //Вестник Башкирского университета. – 2014. – Т. 19. – №. 3.

Кузьмина Л. Ю. и др. Эффективность бактериальных препаратов при защите растений яровой пшеницы от твердой головки //Сельскохозяйственная биология. – 2003. – Т. 38. – №. 5. – С. 69-73.

Литовка Ю.А. Влияние биоконтрольных штаммов *Trichoderma asperellum*, *Bacillus subtilis* и *Pseudomonas fluorescens* на биологическую активность и структуру микробиоценоза почвы / Ю.А. Литовка, Т.И. Громовых, В.М. Гукасян // Сибирский экологический журнал. – 2002. – № 3. – С. 371-376.

Мелентьев А. И. Аэробные спорообразующие бактерии *Bacillus Cohn* в агроэкосистемах. – 2007.

Мякинкова Л. Л. Влияние влагообеспеченности и минерального питания на процессы формирования урожая яровой пшеницы в условиях центра Нечерноземной зоны : дис. – М. : Мякинкова Лидия Львовна, 1994.

Новикова И. И. и др. Биологическое обоснование создания и применения полифункциональных биопрепаратов на основе микробов-антагонистов для фитосанитарной оптимизации агроэкосистем //Вестник защиты растений. – 2017. – №. 3. – С. 16-23..

Садыкова В. С., Кураков А. В. Перспективы использования штаммов рода *Trichoderma* для получения вермикомпостов с фунгицидными и ростстимулирующими свойствами //Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. – Некоммерческая организация Редакция журнала " Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук", 2013. – №. 2. – С. 37-40.

Сейкетов Г. Ш. Грибы рода *Trichoderma* и их использование в практике //Алма-Ата: Наука. – 1982.

Штерниш М.В. Грибные препараты / М.В. Штерниш, Ф.С. Джалилов, И.В. Андреева, О.Г. Томилова // Биологическая защита растений. – М: Колос, 2004. – С. 195-198.

Baker E.N. Crystals of family 11 xylanase II from *Trichoderma longibrachiatum* that diffract to atomic resolution / E.N. Baker, Z. Dauter // *Acta Cryst.* – 2004. – Vol. D60. – P. 1275-1277.

Benítez T. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains / T. Benítez, AM. Rincón, M.C. Limón, A.C. Codón // *International Microbiology.* – 2004. – № 7. – P. 249-260.

Beranová J. et al. Differences in cold adaptation of *Bacillus subtilis* under anaerobic and aerobic conditions // *Journal of bacteriology.* – 2010. – Т. 192. – №. 16. – С. 4164-4171.

Druzhinina I.S. *Hypocrea flaviconidia*, a new species from Costa Rica with yellow conidia / I. Druzhinina, P. Chaverri, P. Fallah, C.P. Kubicek, G.J. Samuels // *Studies in Mycology.* – 2004. – Vol. 50. – P. 401-407. 196 46.

Druzhinina I.S. An unknown species of *Hypocreaceae* isolated from lung tissue of a patient with pulmonary fibrosis / I.S. Druzhinina, K. LaFe, M. Komon-Zelazowska, J.D. Rogers, C.P. Kubicek // 9th International Workshop on *Trichoderma* and *Gliocladium*, Vienna, Austria. – 2006.

Eastburn D. M., Butler E. E. Effects of soil moisture and temperature on the saprophytic ability of *Trichoderma harzianum* // *Mycologia.* – 1991. – Т. 83. – №. 3. – С. 257-263.

Harman G.E. Myths and dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T22 // *Plant Dis.* – 2000. – Vol. 84. – P. 377-393.

Harman G.E. Potential and existing uses of *Trichoderma* and *Gliocladium* for plant disease control and plant growth enhancement / G.E. Harman, T. Björkman // Harman G.E., Kubicek C.P. (eds.). *Trichoderma* and *Gliocladium*, Vol. 2. Enzymes, biological control and commercial application. Taylor and Francis Ltd., London, 1998. – P. 229-265.

Harman G.E. Trichoderma species-opportunistic, avirulent plant symbionts / G.E. Harman, C.R. Howell, A. Viterbo, I. Chet, M. Lorito // Nature Reviews. – 2004. – Vol. 2. – P. 43-56. 65. H

Howell C.R. A study of the characteristics of «P» and «Q» strains of Trichoderma virens to account for differences in biological control efficacy against cotton seedling diseases / C.R. Howell, L.S. Puckhaber // Biological Control. – 2005. – Vol. 33. – Issue 2. – P. 217-222

Jassby A. D., Platt T. Mathematical formulation of the relationship between photosynthesis and light for phytoplankton // Limnology and oceanography. – 1976. – T. 21. – №. 4. – C. 540-547.

Kitajima M., Butler W. L. Quenching of chlorophyll fluorescence and primary photochemistry in chloroplasts by dibromothymoquinone // Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics. – 1975. – T. 376. – №. 1. – C. 105-115.

Lichtenthaler H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes // Methods in enzymology. – Academic Press, 1987. – T. 148. – C. 350-382.

Rautio J. Transcriptional analysis of Trichoderma reesei bioprocesses with the novel TRAC method / J. Rautio, K. Kataja, R. Satokari, M. Penttilä, H. Sodelund, M. Saloheimo // 9th International Workshop on Trichoderma and Gliocladium, Vienna, Austria. – 2006.

Rudresh D.L. Effect of combined application of Rhizobium, phosphate solubilizing bacterium and Trichoderma spp. on growth, nutrient uptake and yield of chickpea (Cicer aritenium L.) / D.L. Rudresh, M.K. Shivaprakash, R.D. Prasad // Appl. Soil Ecol. – 2005. – Vol. 28. – Issue 2. – P. 139-146.

Sadykova V.S. Control of Fusarium species with Trichoderma asperellum in combination with organic compounds to coniferous seedlings in Central Siberia / V.S. Sadykova, T.I. Gromovykh, T. Ryazanova // 9th International Workshop on Trichoderma and Gliocladium, Vienna, Austria. – 2006.

Samuels et al., 1996 Samuels G.J. Trichoderma: a review of biology and systematics of the genus // Mycol. Res. – 1996. – Vol. 100. – P. 923-935.

Samuels G.J. Trichoderma species associated with the green mold epidemic of commercially grown *Agaricus bisporus* / G.J. Samuels, S.L. Dodd, W. Gams, L.A. Castlebury, O. Petrini // *Mycologia*. – 2002. – № 1. – P. 156-170.

Smith W.H. Forest occurrence of Trichoderma species – emphasis on potential organochlorine (xenobiotic) degradation// *Ecotoxicol. Environ. Safety*. – 1995. – Vol. 32. – № 2. – P. 179-183.

Strakowska J., Błaszczyk L., Chelkowski J. The significance of cellulolytic enzymes produced by Trichoderma in opportunistic lifestyle of this fungus // *J. Basic Microb.* - 2014.

Vinale F. Trichoderma secondary metabolites: role in interactions with plants and other microorganisms / F. Vinale, K. Sivasithamparam, E.L. Ghisalberti, M. Barbetti, H. Li, R. Marra, F. Scala, S.L. Woo, M. Lorito // 9th International Workshop on Trichoderma and Gliocladium, Vienna, Austria. – 2006.

Vinale F., Sivasithamparam K., Ghisalberti E.L., Marra R., Woo S.L., Lorito M. Trichoderma – plant – pathogen interactions // *Soil Biol. Biochem.* - 2008. – P. 1–10

Wang T. Directed evolution for engineering pH profile of endoglucanase III from *Trichoderma reesei* / T. Wang, X. Liu, Q. Yu, X. Zhang, Y. Qu, P. Gao, T. Wang // *Biomolecular Engineering*. – 2005. – Vol. 22. – P. 89–94

Ward M. improving secreted enzyme production by *Trichoderma reesei* // 9th International Workshop on Trichoderma and Gliocladium, Vienna, Austria. – 2006.

[Электронный ресурс] Плантиум: открытый онлайн атлас-определитель растений и лишайников России и сопредельных стран. 2007—2019. <http://www.plantarium.ru/>

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт Фундаментальной Биологии и Биотехнологии

Кафедра водных и наземных экосистем

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой



М.И. Гладышев

« 1 » июля 2020г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 Биология

Код и наименование специальности

Влияние биопрепаратов на основе грибов *Trichoderma Viride* и бактерий
Bacillus Subtillis на рост и развитие *Avena Sativa*

Тема работы



Научный руководитель

доцент, д.б.н

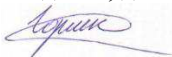
Голованова Т.И.

Подпись, дата

Должность, ученая степень

Инициалы, фамилия

Выпускник



Подпись, дата

Горшков Е.О.

Инициалы, фамилия