

АНТАГОНІСТИЧНА АКТИВНІСТЬ ҐРУНТОВИХ МІКРООРГАНІЗМІВ ЯК ЕФЕКТИВНИЙ ЗАСІБ ЗАХИСТУ РОСЛИН ВІД АКРЕМОНІОЗУ

Г. В. Цехмістер, А. С. Кислинська, А. А. Павленко

Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН
вул. Шевченка, 97; м. Чернігів, 14035, Україна; e-mail: anna.tceh@gmail.com

Мета. Скринінг мікроорганізмів-антагоністів фітопатогенного гриба *Acremonium cicutarbitacearum*. **Методи.** Антагоністичну активність мікроорганізмів досліджували методом змішаних (зустрічних) культур на сусло-агарі. Відмічали зовнішній вигляд і тип відносин, використовуючи шкалу в модифікації Симоняна і Маміконяна. Первинний скринінг мікроорганізмів-антагоністів *A. cicutarbitacearum* 502 проводили методом відстроченого антагонізму. Морфолого-культуральні ознаки *Trichoderma* sp. 017 вивчали на сусло-агарі. Гриб вирощували протягом 10 діб. **Результати.** Встановлено, що майже всі досліджені мікроорганізми проявляли антагоністичні властивості щодо *A. cicutarbitacearum* 502. Зокрема, серед бактерій штаму *Bacillus* sp. 23 проявляв найвищу антифунгальну активність і стримував ріст патогена навіть через 25 діб їх сумісного культивування. Скринінг мікроміцетів родів *Trichoderma* і *Chaetomium* показав, що всі досліджувані штами тією чи іншою мірою проявляли антагоністичну активність щодо *A. cicutarbitacearum* 502. Гриби роду *Chaetomium* — *C. globosum* 377 і *C. cochliodes* 3250 — за контакту з колонією *A. cicutarbitacearum* 502 зупинили ріст останнього, проявивши гіперпаразитизм на 25 та 15-у добу відповідно. Серед грибів роду *Trichoderma*, штаму *Trichoderma* sp. 017 характеризувався найшвидшим ростом і на 5-у добу культивування проявив гіперпаразитизм, зупинивши ріст *A. cicutarbitacearum* 502 і повністю заселивши колонію патогена. Колонії гриба *Trichoderma* sp. 017 на сусло-агарі швидко ростуть, утворюють білу міцеліальну плівку та темно-зелену конідіальну зону. Оптимальний показник рН — 5,0. Міцелій складається з безбарвних, гладеньких, сильно гіллястих гіф, 2,5–6,0 мкм в діаметрі. Конідієносці дуже гіллясті в компактних або пухких подушечках, з головною віссю, 3,5–4,0 мкм товщини. Стеригми утворюють кільця з 2–3 стеригм, мінливі за розміром, 6,25–15,0×2,5–3,0 мкм. Конідії кулясті 2,0–3,0×3,5–5,0 мкм. **Висновки.** Для захисту рослин від акремоніозу, спричиненого фітопатогеном *A. cicutarbitacearum*, пропонується штаму *Trichoderma* sp. 017, який характеризується найшвидшим ростом і активним гіперпаразитизмом. За морфолого-культуральними ознаками гриб віднесено до виду *T. viride* 017.

Ключові слова: бактерії, мікроміцети, антагоніст, *Acremonium cicutarbitacearum*, *Trichoderma*, *Chaetomium*, *Bacillus*.

Вступ. Біологічний метод захисту рослин від збудників хвороб базується на використанні мікроорганізмів-антагоністів. В його основі лежать такі основні механізми: конкуренція за сайти в клітинах і тканинах рослин-господарів; конкуренція за субстрат, яка зумовлюється здатністю до швидкого ро-

сту і синтезом сидерофорів; ослаблення паразитів унаслідок інгібування патогенності або зниження вірулентності; синтез вторинних метаболітів (SMs), що згубно діють на патогени (антибіотичні сполуки і літичні ферменти); а також індукування стійкості у рослин за рахунок утворення симбіотичних

асоціації аналогічно мікоризоутворюючим грибам [1–3]. Найактивнішими антагоністами серед бактерій є представники родів *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Streptomyces* та *Serratia*, серед грибів — *Trichoderma*, *Trichotecium*, *Chaetomium* та інші.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Біопрепарати на основі бактерій роду *Bacillus* мають багато переваг: біоагенти цих препаратів легко культивуються, можуть тривалий час зберігатися у вигляді спор, що значно полегшує інокуляцію посівного матеріалу і пролонгує тривалість дії біопрепарату в агробіоценозі. Антагоністичний вплив бактерій роду *Bacillus* на фітопатогенні гриби зумовлений здатністю бацил продукувати різні антибіотики, зокрема мікобацилін, поліміксин, сурфактин, ліхенізин, мікосубтилін, ірутин та інші, які порушують клітинну стінку грибів [4–5].

Досить часто для боротьби з патогенною мікробіотою застосовують гриби роду *Chaetomium*. Зокрема, види *C. globosum*, *C. cochlioides* і *C. cupreum* є біоагентами препаратів для захисту рослин [6–11]. Гриби *C. brasiliense* CB01 і *C. cupreum* CC03 проявляли антагонізм щодо *Fusarium oxysporum lycopersici* NKSC02, який спричиняє в'янення томатів [7]. Відомий препарат Ketomium ефективний у боротьбі з *Phytophthora*, *Fusarium* та *Sclerotinia* [6]. Популярним є вітчизняний біопрепарат Хетомік на основі гриба *C. cochliodes* 3250 [11]. Гриб *C. cochliodes* 3250 успішно приживається в кореневій зоні рослин пшениці ярої й активно колонізує кореневу систему, витискаючи з неї збудників корневих гнилей. Також показано його здатність до біосинтезу арахідонової кислоти, яка є біогенним еліситором і у тканинах рослин індукує системну імунну відповідь на дію фітопатогенних мікроорганізмів [8–10].

Гриби роду *Trichoderma* — перспективні біоагенти мікробних препаратів для захисту сільськогосподарських культур від збудників хвороб. Вони все частіше привертають увагу дослідників і більш ніж 90 % біофунгіцидів створені на їх основі [12]. Найчастіше для боротьби з грибними хворобами використовують штами *T. harzianum*, *T. viride*, *T. virens*. Представники роду *Trichoderma* є антагоністами таких фітопатогенів, як *Phytophthora infestans*, *Alternaria alternata* і *Botrytis cinerea* [13–15]. Гриби *T. harzianum*, *T. viride*, *T. vi-*

rens проявляють антагонізм відносно *Verticillium tricorpus*, *V. dahliae*, *V. albo-atrum* [16]. Триходерми знижують інфекційний фон ґрунтів, відновлюючи їхню супресивність, тобто здатність у природних біоценозах пригнічувати патогенну мікробіоту [17]. Висока антагоністична активність грибів роду *Trichoderma* зумовлюється різними механізмами дії: конкуренція за субстрат за рахунок синтезу сидерофорів, гіперпаразитизм, в основі якого лежить синтез літичних ферментів і продукування антибіотичних речовин. Спільна дія літичних ферментів з антибіотиками забезпечує більш високий рівень антагонізму проти їх дії окремо. Відома синергічна дія ферментів гідролаз і антибіотиків, водночас деградація клітинних стінок фітопатогенів супроводжується інгібуванням швидкості росту гриба [17].

Акремоніоз в Україні діагностували не так давно. Збудник виділено в 2012 році, в 2014–2015 рр. описано його морфолого-культуральні властивості [18], підтверджено його патогенність щодо рослин огірків [19], показано синтез етилену [20] і целюлазних ферментів [21]. Тому пошук потенційних мікроорганізмів-антагоністів для контролю акремоніозу є надзвичайно актуальним. Виходячи з цього, метою нашої роботи був скринінг мікроорганізмів-антагоністів фітопатогенного гриба *Acremonium cucurbitacearum*.

Матеріали й методи досліджень. Для скринінгу мікроорганізмів-антагоністів фітопатогена *A. cucurbitacearum* 502 використовували штами бактерій і грибів з колекції лабораторії рослинно-мікробних взаємодій Інституту сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН, а саме бацили: *Bacillus* sp. 23, *Bacillus* sp. 480, *Bacillus* sp. 459, *Bacillus* sp. 409 та *Bacillus* sp. 419; гриби: *C. globosum* 377, *C. cochliodes* 3250, *Trichoderma* sp. 159, *Trichoderma* sp. 257, *Trichoderma* sp. 292, *Trichoderma* sp. 505, *Trichoderma* sp. 011, *Trichoderma* sp. 017, *Trichoderma* sp. НК-62, *Trichoderma* sp. НК-66, *Trichoderma* sp. НК-78, *Trichoderma* sp. НК-83, *Trichoderma* sp. НК-128.

Антагоністичну активність мікроорганізмів досліджували методом змішаних (зустрічних) культур [22–23] на сусло-агарі (4–5 % сухих речовин) в чашках Петрі діаметром 90 мм із шаром середовища завтовшки

6 мм. Чашки Петрі розміщували в термостаті за температури 26 ± 2 °С. Повторність досліду триразова. Відмічали зовнішній вигляд і тип відносин, використовуючи шкалу в модифікації Симоняна і Маміконяна [23].

Первинний скринінг мікроорганізмів-антагоністів *A. cucurbitacearum* 502 проводили методом відстроченого антагонізму [22]. Культура *A. cucurbitacearum* 502 була висіяна в чашку Петрі на відстані 5 мм від краю чашки. На 5-у добу росту патогена на протилежний бік були висіяні антагоністи. Облік проводили на 5, 8, 15 та 25-у добу росту антагоніста. Контролем були патогени, висіяні окремо.

Морфолого-культуральні ознаки *Trichoderma* sp. 017 вивчали на сусло-агарі шляхом вирощування гриба протягом 10 діб. Ідентифікацію до виду проводили, використовуючи відповідні визначники [24; 25]. Культуру гриба вивчали з використанням мікроскопу Delta Optical Evolution Trino LED (Польща) та камери MICROmed (5 Мрiх).

Результати та їх обговорення. Встановлено, що майже всі досліджені мікроорганізми проявляли антагоністичні властивості щодо *A. cucurbitacearum* 502. Зокрема, дослі-

дження антифунгальних властивостей бактерій роду *Bacillus* показало, що з 5 штамів бактерій 4 проявляють антагонізм щодо *A. cucurbitacearum* 502. *Bacillus* sp. 23 проявляв найвищу антифунгальну активність (рис. 1) і стримував ріст патогена навіть через 25 діб їх сумісного культивування.

Скринінг мікроміцетів родів *Trichoderma* і *Chaetomium* показав, що всі досліджувані штамми тією чи іншою мірою проявляли антагоністичну активність щодо *A. cucurbitacearum* 502 (табл.). Гриби роду *Chaetomium* — *C. globosum* 377 і *C. cochliodes* 3250 (біоагент препарату Хетомік) за контакту з колонією *A. cucurbitacearum* 502 зупиняли ріст останнього (рис. 2), проявивши гіперпаразитизм (*C. cochliodes* 3250 повністю колонізував колонію патогена на 15-у добу, *C. globosum* 377 — на 25-у).

Антагоністична активність грибів роду *Trichoderma* щодо *A. cucurbitacearum* 502 представлена в табл. та на рис. 3. З 11 досліджених штамів триходерми 9 виявляли високу антагоністичну активність. Так, за контакту з колонією патогена штамів *Trichoderma* sp. 011 і *Trichoderma* sp. НК-78 спостерігали зупинку росту обох штамів грибів, що свід-

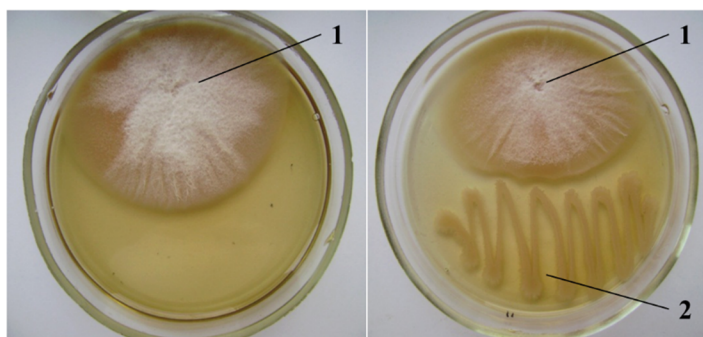


Рис. 1. Антагоністична взаємодія *Bacillus* sp. 23 з фітопатогенним мікроміцетом *A. cucurbitacearum* 502 (8 діб): 1 — *A. cucurbitacearum* 502; 2 — *Bacillus* sp. 23.

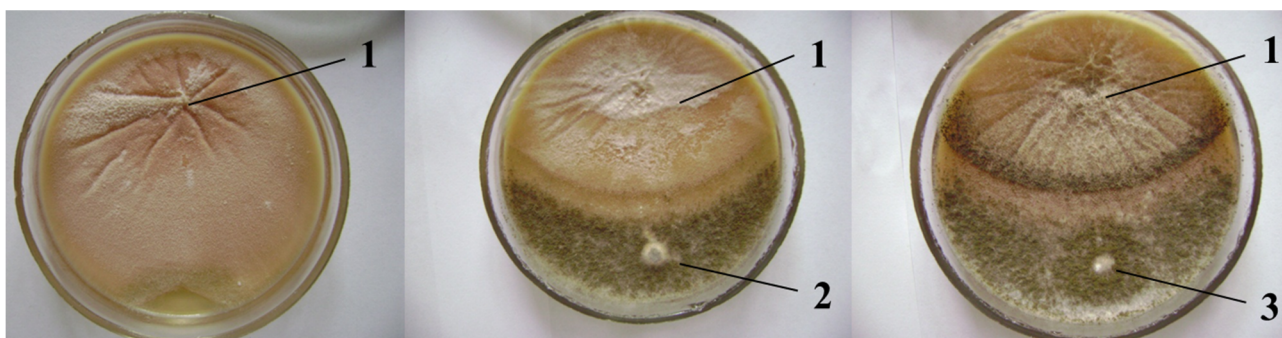


Рис. 2. Антагоністична взаємодія грибів роду *Chaetomium* з фітопатогенним мікроміцетом *A. cucurbitacearum* 502: 1 — *A. cucurbitacearum* 502; 2 — *C. globosum* 377; 3 — *C. cochliodes* 3250.

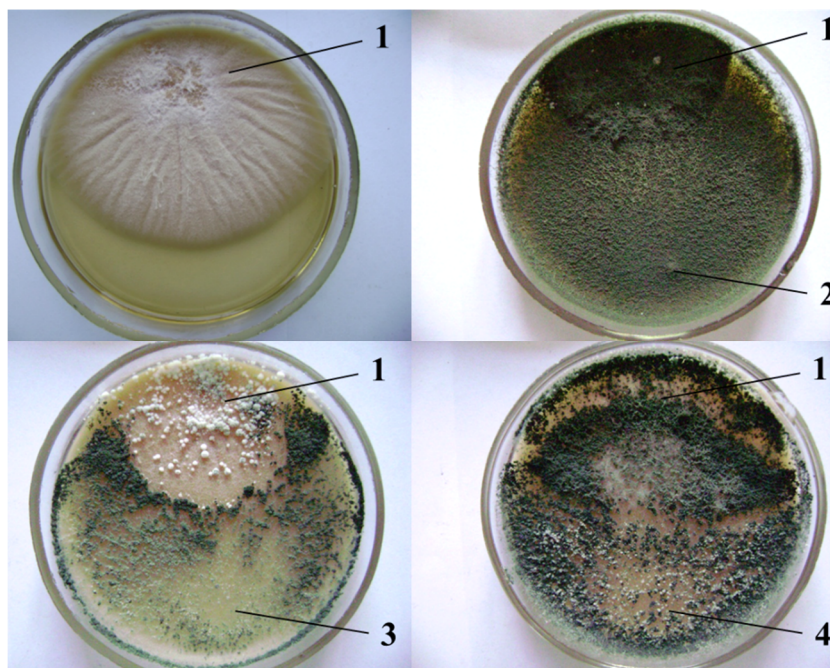


Рис. 3. Антагоністична взаємодія грибів роду *Trichoderma* з фітопатогенним мікроміцетом *A. cucurbitacearum* 502: 1 — *A. cucurbitacearum* 502; 2 — *Trichoderma* sp. 017; 3 — *Trichoderma* sp. 292; 4 — *Trichoderma* sp. 505.

Таблиця. Характеристика антагоністичної активності мікроміцетів щодо *A. cucurbitacearum* 502

| № | Штами | Доба | Тип реакції | Бал |
|----|-----------------------------------|----------|-------------|----------|
| 1 | <i>C. cochliodes</i> 3250 | 15 | Е | 5 |
| 2 | <i>C. globosum</i> 377 | 25 | Е | 5 |
| 3 | <i>Trichoderma</i> sp. 159 | 8 | Е | 5 |
| 4 | <i>Trichoderma</i> sp. 257 | 8 | Е | 5 |
| 5 | <i>Trichoderma</i> sp. 292 | 8 | Е | 5 |
| 6 | <i>Trichoderma</i> sp. 505 | 8 | Е | 5 |
| 7 | <i>Trichoderma</i> sp. 011 | 8 | В | 1 |
| 8 | <i>Trichoderma</i> sp. 017 | 5 | Е | 5 |
| 9 | <i>Trichoderma</i> sp. НК-62 | 8 | Е | 5 |
| 10 | <i>Trichoderma</i> sp. НК-66 | 8 | Е | 5 |
| 11 | <i>Trichoderma</i> sp. НК-78 | 8 | В | 1 |
| 12 | <i>Trichoderma</i> sp. НК-83 | 8 | Е | 5 |
| 13 | <i>Trichoderma</i> sp. НК-128 | 8 | Е | 5 |

Примітка: В — обопільне придушення (за контакту після стикання колоніальний ріст обох організмів припиняється), що відповідає 1 балу; Е — придушення одного організму за контакту (антагоніст продовжує рости з тією ж або меншою швидкістю поверх колонії організму, що придушується), що відповідає 5 балам.

чить про їхню низьку антагоністичну активність (1 бал). Штами *Trichoderma* sp. 159, *Trichoderma* sp. 257, *Trichoderma* sp. 292,

Trichoderma sp. 505, *Trichoderma* sp. НК-62, *Trichoderma* sp. НК-66, *Trichoderma* sp. НК-83, *Trichoderma* sp. НК-128 на 8-у добу їх сумісного культивування з *A. cucurbitacearum* 502 повністю колонізували колонію патогена.

Водночас *Trichoderma* sp. 017 характеризувався найшвидшим ростом і на 5-у добу культивування проявив гіперпаразитизм, зупинивши ріст *A. cucurbitacearum* 502 і повністю заселивши колонію патогена (рис. 3).

Дані літератури свідчать, що триходерми є активними мікопаразитами не тільки міцелія патогенів, а й хламідоспор і склероцій, що надає їм низку переваг, особливо в боротьбі з патогенами роду *Sclerotium* [26–27]. Здатність до гіперпаразитизму зумовлена синтезом широкого спектру хітиназ, який різниться між видами і навіть штамми [28]. Цікавим є той факт, що не вдалося одержати збудників хвороб, які б виявили стійкість до хітиназ, що продукуються триходермами [29]. Важливим у виборі мікроорганізма-антагоніста є здатність до швидкого росту, яка зумовлюється конкуренцією за вуглець, нітроген і йони заліза. Такі мікроорганізми швидше колонізують субстрат і будуть активно конкурувати з патогенною мікробіотою [30], тому для подальших досліджень відібрано штам *Trichoderma* sp. 017 як найбільш перспективний для захисту рослин від ак-

ремоніозу.

Колонії гриба *Trichoderma* sp. 017 на сусло-агарі швидко ростуть, утворюють білу міцеліальну плівку та темно-зелену конідиальну зону. Міцелій складається з безбарвних, гладеньких, сильно гіллястих гіф, 2,5–6,0 мкм в діаметрі. Хламідоспори інтеркалярні, 13–14,5 мкм в діаметрі. Конідієносці дуже гіллясті в компактних або пухких подушечках, з головною віссю, 3,5–4,0 мкм товщини. Стеригми утворюють несправжні кільця з 2–3 стеригм. Стеригми мінливі за розміром, 6,25–15,0×2,5–3,0 мкм, трапляються і до 18 мкм довжини, прямі, звужені в основі, найбільш широкі вище середини, далі звужуються у довгу шийку. Конідії кулясті 2,0–3,0×3,5–5,0 мкм. За морфолого-культуральними ознаками гриб віднесено до виду *T. viride* 017.

Висновки. Для захисту рослин від акремоніозу, спричиненого фітопатогеном *A. cucurbitacearum*, пропонується штам *Trichoderma* sp. 017, який характеризується найшвидшим ростом і активним гіперпаразитизмом. За морфолого-культуральними ознаками гриб віднесено до виду *T. viride* 017.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Howell C. R. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Dis.* 2003, Vol. 87. P. 4–10. <http://doi.org/10.1094/pdis.2003.87.1.4>

2. Vinale F., Sivasithamparam K., Ghisalberti E. L., Marra R., Barbetti M. J., Li H., Woo S. L., Lorito M. A novel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 2008. Vol. 72. P. 80–86. <http://doi.org/10.1016/j.pmp.2008.05.005>

3. Vinale F., Sivasithamparam K., Ghisalberti E. L., Marra R., Woo S. L., Lorito M. *Trichoderma* — plant-pathogen interactions. *Soil Biol. Biochem.* 2008. Vol. 40. P. 1–10. <http://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.07.002>

4. Мелентьев А. И. Аэробные спорообразующие бактерии *Bacillus* Cohn в агроэкосистемах. М.: Наука, 2007. 145 с.

5. Курдиш І. К. Перспектива застосування мікробів-антагоністів у захисті агроекосистем від фітопатогенів. *Сільськогосподарська мікробіологія*. 2011. Вип. 13. С. 23–41.

6. Soyong K., Kanokmedhakul S., Kukongviriyapa V., Isobe M. Application of *Chaetomium* species (*Ketomium*®) as a new broad spectrum biological fungicide for plant disease control. *Fungal Divers.* 2001. Vol. 7. P. 1–15.

7. Sibounnavong P., Sibounnavong P. S., Kanokmedhakul S., Soyong K. Antifungal activities of *Chaetomium brasiliense* CB01 and *Chaetomium cupreum* CC03 against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 2. *J. Agric. Technol.* 2012. Vol. 8. P. 1029–1038.

8. Надкерничный С. П., Охрименко Г. И., Иващенко Г. В. Антагонистические свойства *Chaetomium cochlioides* Paliser 3250 по отношению к возбудителям болезней люпина. *Микробиол. журн.* 1995. Том 57, № 1. С. 48–54.

9. Копилов Є. П., Патица В. П. Вплив інтродукованих мікроорганізмів на мікроміцети дерново-підзолистого ґрунту та продуктивність ярого ячменю *Бюл. Інституту с.-г. мікробіол.* 2000. № 6. С. 62–63.

10. Копилов Є. П. Здатність аскоміцета *Chaetomium cochliodes* (Paliser) вступати в тісні симбіотичні взаємовідносини з рослинами пшениці. *Агроекологічний журнал*. 2008. С. 111–114.

11. Спосіб виготовлення біологічного препарату Хетоміка для передпосівної обробки насіння посадкового матеріалу сільськогосподарських культур: пат. 103591 Україна. МПК C12N1/00, C12N1/14, A01N63/04, Є. П. Копилов, С. П. Надкерничний; заявник і патентовласник: Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН. № u201505536; заявл. 05.06.2015; опубл. 25.12.2015, Бюл. № 24.

12. Błaszczuk L., Siwulski M., Sobieralski K., Lisiecka J., Jędryczka M. *Trichoderma* sp. — application and prospects for use in organic farming and industry. *J. Plant Prot. Res.* 2014. Vol. 54(4). P. 309–317.

13. Невмержицкая О. М., Нурмухаммедов А. К. Эффективность биопрепаратов против возбудителей бурой гнили корнеплодов. *Сахарная свекла*. 2012. № 6. С. 38–40.

14. Николаева С., Николаев А., Шубина В. Сравнительное действие представителей двух видов гриба *Trichoderma* в отношении патогенов сельскохозяйственных культур в условиях *in vitro*. *SUM* 2014. № 6(76). С. 98–102.

15. Стадниченко М. А. Перспективы биологического контроля возбудителя ботритиоза на паслёновых культурах. *Вестник БГУ. Сер. 2*. 2011. № 2. С. 49–55.

16. Fotoohiyan Z., Rezaee S., Bonjar G., Mohammadi A. H., Moradi M. Biocontrol potential of *Trichoderma harzianum* in controlling wilt disease of pistachio caused by *Verticillium dahlia*. *J. Plant Prot. Res.* 2017. Vol. 57. P. 185–193. <http://doi.org/10.1515/jppr-2017-0025>

17. Алимova Ф. К. Современная система *Trichoderma*/Нуросгеа. *Ученые записки Казанского университета. Сер. биол. Естественные науки*. 2005. № 147(2). С. 28–56.

18. Цехмістер Г. В. Вивчення культурально-морфологічних особливостей фітопатогенного гриба *Acremonium* sp. 502. *Сільськогосподарська мікробіологія*. 2014. Вип. 20. С. 49–53.
19. Копилов Є. П., Цехмістер Г. В. Патогенність *Acremonium* sp. 502 щодо рослин огірків. *Карантин і захист рослин*. 2015. № 12 (232). С. 12–13.
20. Цехмістер Г. В. Синтез етилену фітопатогенним грибом *Acremonium* sp. 502. *Сільськогосподарська мікробіологія*. 2015. № 22. С. 9–12.
21. Копилов Є. П., Цехмістер Г. В. Целюлазна активність гриба *Acremonium* sp. 502, виділеного з уражених рослин огірків. *Мікробіологія і біотехнологія*. 2015. № 2. С. 80–88.
22. Експериментальна ґрунтова мікробіологія / за ред. В. В. Волкогона. К. : Аграрна наука, 2010. 464 с.
23. Симонян С. А., Мамиконян Т. С. Взаємодія компонентів карпофільних микосинузій в експерименті. *Микологія і фитопатологія*. 1982. № 16(3). С. 219–255.
24. Hoynes C. D., Lewis J. A., Lumsden R. D., Bean G. A. Biological control agents in combination with fertilization or fumigation to reduce sclerotial viability of *Sclerotium rolfsii* and disease of snap beans in the greenhouse. *J. Phytopathol.* 1999, 147 (3), pp 175–182.
25. Clarkson J. P., Paune T., Meal A., Whipps J. M. Biological control of *Allium* white rot by sclerotial degrading fungi, 8th International Congress of Plant Pathology, Chischurch, New Zealand, February 2–7, 2003. 34 p.
26. Hoynes C. D., Lewis J. A., Lumsden R. D., Bean G. A. Biological control agents in combination with fertilization or fumigation to reduce sclerotial viability of *Sclerotium rolfsii* and disease of snap beans in the greenhouse. *J. Phytopathol.* 1999. № 147(3). P. 175–182.
27. Clarkson J. P., Paune T., Meal A., Whipps J. M. Biological control of *Allium* white rot by sclerotial degrading fungi, 8th International Congress of Plant Pathology, Chischurch, New Zealand, February 2–7. 2003. P. 34.
28. Lorito M., Harman G. E., Kubicek C. P. Chitinolytic enzymes and their genes. *Trichoderma and Gliocladium*, Vol. 2. Taylor and Francis: London. 1998. P. 73–99.
29. Haran S., Schickler H., Chet I. Molecular mechanisms of lytic enzymes involved in the biocontrol activity of *Trichoderma harzianum*. *Microbiology*. 1996. № 142(9). P. 2321–2331.
30. Vinale F., Sivasithamparam K., Ghisalberti E. L., Marra R., Woo S. L., Lorito M. *Trichoderma* — plant-pathogen interactions. *Soil Biol. Biochem.* 2008. № 40. P. 1–10.

Отримано 12.08.2019

<https://doi.org/10.35868/1997-3004.30.46-53>

UDC 632.937.1.04:632.937.1.02:632.937.1.05:632.937.14

ANTAGONISTIC ACTIVITY OF SOIL MICROORGANISMS AS AN EFFECTIVE MEANS OF PLANT PROTECTION AGAINST ACREMONIOSIS

G. V. Tsekhmister, A. S. Kyslynska, A. A. Pavlenko

Institute of Agricultural Microbiology and Agroindustrial Manufacture, NAAS, Chernihiv
e-mail: anna.tceh@gmail.com

Objective. Screening of microorganisms — antagonists of the phytopathogenic fungus *Acremonium cucurbitacearum*. **Methods.** The antagonistic activity of microorganisms was investigated by the method of mixed (counter) cultures on wort agar. The appearance and type of relationships were registered using Simonian and Mamikonian modified scale. The primary screening of *A. cucurbitacearum* 502 antagonists was performed by the delayed antagonism method. Morphological and cultural characteristics of *Trichoderma* sp. 017 were studied on wort agar. The fungus was grown for 10 days. **Results.** Almost all of the microorganisms under study were found to exhibit antagonistic properties against *A. cucurbitacearum* 502. In particular, among bacteria, *Bacillus* sp. 23 exhibited the highest antifungal activity and inhibited the growth of the pathogen even after 25 days of their compatible cultivation. Screening for micromycetes of the genera *Trichoderma* and *Chaetomium* showed that all the tested strains showed antagonistic activity to *A. cucurbitacearum* 502 to one extent or another. Following contact of *Chaetomium* fungi — *C. globosum* 377 and

C. cochliodes 3250 with *A. cucurbitacearum* 502, they delayed growth of the latter, showing superparasitism at Day 25 and 15, respectively. Among the fungi of the genus *Trichoderma*, strain *Trichoderma* sp. 017 was characterized by the fastest growth and at Day 5 of cultivation showed superparasitism, arresting the growth of *A. cucurbitacearum* 502 and completely invading the colony of pathogen. Colonies of the fungus *Trichoderma* sp. 017 on wort agar show rapid growth, forming a white mycelium film and a dark green conidial zone. The optimum pH is 5.0. The mycelium consists of colourless, smooth, strongly branched hyphae, 2.5–6.0 µm in diameter. Conidiphores are very branched in compact or loose pads, with a main axis, 3.5–4.0 µm thick. Sterigmata form rings with 2–3 sterigmata varying in size, 6.25–15.0×2.5–3.0 µm. Conidia are spherical 2.0–3.0×3.5–5.0 µm. **Conclusion.** Therefore, in order to protect plants from acremoniasis caused by the phytopathogen *A. cucurbitacearum*, we suggest the strain *Trichoderma* sp. 017, which is characterized by the most rapid growth and active superparasitism. According to morphological and cultural characteristics, the fungus is classified as *T. viride* 017.

Key words: bacteria, micromycetes, antagonist, *Acremonium cucurbitacearum*, *Trichoderma*, *Chaetomium*, *Bacillus*.

REFERENCES

- Howell, C. R. (2003). Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Dis.*, 87, 4–10. <http://doi.org/10.1094/pdis.2003.87.1.4>
- Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Marra, R., Barbetti, M. J., Li, H., Woo, S. L., & Lorito, M. (2008). A novel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 72, 80–86. <http://doi.org/10.1016/j.pmpp.2008.05.005>
- Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Marra, R., Woo, S. L., & Lorito, M. (2008). *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. *Soil Biol. Biochem.*, 40, 1–10. <http://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.07.002>
- Melentev, A. I. (2007). *Aerobnyie sporoobrazuyushchie bakterii Bacillus Cohn v agroekosistemah* [Aerobic spore-forming bacteria *Bacillus* Cohn in agroecosystems]. Nauka : Moskva [in Russian].
- Kurdish, I. K. (2011). Perspektiva zastosuvannya mikrobyv-antagonistiv u zahisti agroekosistem vid fitopatogeniv [Prospects for the use of microbial antagonists in the protection of agroecosystems against phytopathogens]. *Silskogospodarska mikrobiologia — Agricultural Microbiology*, 13, 23–41 [in Ukrainian].
- Soytong, K., Kanokmedhakul, S., Kukongviriyapa V., & Isobe, M. (2001). Application of *Chaetomium* species (*Ketomium*®) as a new broad spectrum biological fungicide for plant disease control. *Fungal Divers.*, 7, 1–15.
- Sibounnavong, P., Sibounnavong, P. S., Kanokmedhakul, S., & Soyong K. (2012). Antifungal activities of *Chaetomium brasiliense* CB01 and *Chaetomium cupreum* CC03 against *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* race 2. *J. Agric. Technol.*, 8, 1029–1038.
- Nadkernichnyy, S. P., Ohrimenko, G. I., & Ivaschenko, G. V. (1995). Antagonisticheskie svoystva *Chaetomium cochlioides* Paliser 3250 po otnosheniyu k vozбудitelyam bolezney lyupina [Antagonistic properties of *Chaetomium cochlioides* Paliser 3250 against lupine pathogens]. *Mikrobiologichnyi zhurnal — Microbiological journal*, 57 (1), 48–54 [in Russian].
- Kopilov, E. P., & Patika, V. P. (2000). Vplyv Introdukovanih mikroorganizmiv na mikromitseti dernovo-pidzolistogo gruntu ta produktivnist yarogo yachmenyu [Influence of introduced microorganisms on micromycetes of sod-podzolic soil and productivity of spring barley]. *Byul. Institutu s.-g. mikrobiol. — Bul. Institute of Agricultural*, 6, 62–63 [in Ukrainian].
- Kopilov, E. P. (2008). Zdatnist askomitseta *Chaetomium cochlioides* (Paliser) vstupati v tisini simbiotichni vzaemovidnosini z roslinami pshenitsi [The ability of ascomycetes *Chaetomium cochlioides* (Paliser) to enter into close symbiotic relationships with wheat plants]. *Agroekol. zhurn. — Agro-ecological journal*, 111–114 [in Ukrainian].
- Pat. 103591 UA, МПК C12N1/00, C12N1/14, A01N63/04. A method of manufacturing a biological preparation of Hetomika for pre-sowing treatment of seeds of agricultural planting material, Kopilov, E. P., Nadkernichnyy, S. P., Publ. 25.12.2015 [in Ukrainian].
- Błaszczczyk, L., Siwulski, M., Sobieralski, K., Lisiecka, J., & Jędrzycka, M. (2014). *Trichoderma* sp. – application and prospects for use in organic farming and industry. *J. Plant Prot. Res.*, 54(4), 309–317.
- Nevmerzhitskaya, O. M., & Nurmuhamedov, A. K. (2012). Effektivnost biopreparatov protiv vozбудiteley buroy gnili korneplodov [The effectiveness of biological products against pathogens of brown rot of root crops]. *Saharnaya svekla*, 6, 38–40 [in Russian].
- Nikolaeva, S., Nikolaev, A., & Shubina, V. Sravnitelnoe deystvie predstaviteley dvuh vidov gri-

- ba *Trichoderma* v otnoshenii patogenov selsko-kozyaystvennykh kultur v usloviyakh in vitro [Comparative effect of representatives of two species of *Trichoderma* fungus in relation to pathogens of agricultural crops in vitro]. *SUM* 2014, 6(76), 98–102 [in Russian].
15. Stadnichenko, M. A. (2011). Perspektivnyi biologicheskogo kontrolya vzbuditelya botritioza na paslonovykh kulturakh [Prospects for the biological control of the causative agent of botrythiosis in paslon cultures]. *Vestnik BGU*, 2, 49–55 [in Russian].
16. Fotoohiyani, Z., Rezaee, S., Bonjar, G., Mohammadi, A. H., & Moradi, M. (2017). Biocontrol potential of *Trichoderma harzianum* in controlling wilt disease of pistachio caused by *Verticillium dahlia*. *J. Plant Prot. Res.*, 57, 185–193. <http://doi.org/10.1515/jppr-2017-0025>
17. Alimova, F. K. (2005). Sovremennaya sistema *Trichoderma/Hypocrea* [Modern *Trichoderma/Hypocrea* system]. *Uchenyie zapiski Kazanskogo universiteta. Ser. biol. Estestvennyie nauki*, 147(2), 28–56 [in Russian].
18. Tsehmister, G. V. (2014). Vivchennya kulturalno-morfologichnih osoblivostey fitopatogenno-go griba *Acremonium* sp. 502 [Study of the cultural and morphological features of the phytopathogenic fungus *Acremonium* sp. 502]. *Silskogospodarska mikrobiologiya — Agricultural Microbiology*, 20, 49–53 [in Ukrainian].
19. Kopilov, E. P., & Tsehmister, G. V. (2015). Patogennist *Acremonium* sp. 502 schodo roslin ogirkiv [The pathogenicity of *Acremonium* sp. 502 on cucumber plants]. *Karantin i zahist roslin — Quarantine and plant protection*, 12(232), 12–13 [in Ukrainian].
20. Tsehmister, G. V. (2015). Sintez etilenu fitopatogennim grihom *Acremonium* sp. 502 [Synthesis of ethylene by the phytopathogenic fungus *Acremonium* sp. 502]. *Silskogospodarska mikrobiologiya — Agricultural Microbiology*, 22, 9–12 [in Ukrainian].
21. Kopilov, E. P., & Tsehmister, G. V. (2015). Tselyulazna aktivnist griba *Acremonium* sp. 502 [Cellulase activity of the fungus *Acremonium* sp. 502 isolated from the affected cucumber plants], vi-
dilenogo z urazhenih roslin ogirkiv. *Mikrobiologiya i biotekhnologiya — Microbiology and biotechnology*, 2, 80–88 [in Ukrainian].
22. Volkogon, V. V. (2010). Red. *Eksperymentalna gruntova mikrobiologiya* [Experimental Soil Microbiology]; Agrarna nauka: Kiyiv [in Ukrainian].
23. Simonyan, S. A., & Mamikonyan, T. S. (1982). Vzaimodeyvtvie komponentov karpofilnykh mikosinuziy v eksperimente [The interaction of the components of carpophilic mycosinuzia in the experiment]. *Mikologiya i fitopatologiya*, 16(3), 219–255 [in Russian].
24. Hoynes, C. D.; Lewis, J. A.; Lumsden, R. D.; Bean, G. A. (1999) Biological control agents in combination with fertilization or fumigation to reduce sclerotial viability of *Sclerotium rolfsii* and disease of snap beans in the greenhouse. *J. Phytopathol.*, 147 (3), pp 175–182.
25. Clarkson, J. P.; Paune, T.; Meal, A.; Whipps, J. M. (2003) Biological control of *Allium* white rot by sclerotial degrading fungi, 8th International Congress of Plant Pathology, Chisctchurch, New Zealand, February 2–7, 2003; p 34.
26. Hoynes, C. D., Lewis, J. A., Lumsden, R. D., & Bean, G. A. (1999). Biological control agents in combination with fertilization or fumigation to reduce sclerotial viability of *Sclerotium rolfsii* and disease of snap beans in the greenhouse. *J. Phytopathol.*, 147(3), 175–182.
27. Clarkson, J. P., Paune, T., Meal, A., Whipps, J. M. (2003). Biological control of *Allium* white rot by sclerotial degrading fungi, 8th International Congress of Plant Pathology, Chisctchurch, New Zealand, February 2–7. P. 34.
28. Lorito, M., Harman, G. E., Kubicek, C. P. (1998). Chitinolytic enzymes and their genes. *Trichoderma and Gliocladium*, Vol. 2; Taylor and Francis: London, P. 73–99.
29. Haran, S., Schickler, H., & Chet, I. (1996). Molecular mechanisms of lytic enzymes involved in the biocontrol activity of *Trichoderma harzianum*. *Microbiology*, 142(9), P. 2321–2331.
30. Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Marra, R., Woo, S. L., & Lorito, M. (2008). *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. *Soil Biol. Biochem.*, 40, 1–10.

Received 12.08.2019