

Орловская область

**Всероссийский конкурс юных исследователей окружающей среды  
имени Б.В. Всесвятского**

*«Прикладная химия и биотехнологии»*

**ОЦЕНКА КАЧЕСТВА БИОПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ  
ГРИБА РОДА TRICHODERMA**

Автор работы:  
**Наумова Екатерина Юрьевна,**  
обучающаяся объединения  
«Современные методы биологических исследований»  
ЦПР экологической направленности – региональная Экостанция  
БУ ОО ДО «Орловская станция юных натуралистов»;  
обучающаяся 10 класса МБОУ-гимназия №34 г. Орла

Научный руководитель:  
**Сидорова Татьяна Николаевна,**  
педагог дополнительного образования  
ЦПР экологической направленности – региональная Экостанция  
БУ ОО ДО «Орловская станция юных натуралистов»

Консультант:  
**Ампилогова Татьяна Анатольевна,**  
заместитель директора, учитель биологии  
МБОУ-гимназия №34 г. Орла

Орёл, 2023 год

## СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР.....	5
1.1.Грибы рода Trichoderma .....	5
1.2.Факторы среды, влияющие на рост микромицетов Trichoderma .....	6
1.3.Использование грибов рода Trichoderma в защите растений.....	7
2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ .....	8
2.1.Исследуемые препараты.....	8
2.2.Методика исследования .....	10
3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	13
ВЫВОДЫ.....	16
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	16
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....	17

## **ВВЕДЕНИЕ**

В условиях высокой специализации сельскохозяйственного производства неотъемлемым фактором получения высоких урожаев сельскохозяйственных культур и сохранения их качества является проведение защитных мероприятий. Химический метод защиты наряду с преимуществами (например, быстрое и резкое снижение численности вредных видов) обладают и существенными недостатками, такими, как накопление остатков химикатов в сельскохозяйственной продукции, загрязнение окружающей среды (водоёмов, почвы, воздуха), гибель полезных насекомых, рыб, птиц и животных, нанесение вреда здоровью человека [2, 13].

На сегодняшний день перспективным направлением сельского хозяйства является его биологизация т.е. максимальное замещение высоко опасных препаратов на экологически безвредные. Одним из направлений биологизации является интродукция в почву и на растения полезных микроорганизмов за счёт обработки биологическими средствами защиты растений, в основе которых лежат природные, естественные явления сверхпаразитизма и антагонизма между сапрофитной, паразитной и фитопатогенной микрофлорой.

### **Актуальность**

Приоритетное положение в биологической защите растений от фитопатогенов занимают грибы рода *Trichoderma*. К настоящему времени известны более 380 видов этого рода гриба [14], из которых в растениеводстве наиболее часто применяются *Trichoderma harzianum* и *Trichoderma viridae*. Эти микроскопические грибы используются в мировой практике для создания и разработки биологических препаратов.

В настоящее время в связи с активным ростом рынка биопрепаратов, появлением новых производителей и наименований, многих волнует проблема выбора качественного биопрепарата. Выпускаемые биопрепараты полностью готовы к применению, однако препараты триходермы, продающиеся в

магазинах, не содержат живых клеток. Они содержат споры – «спящую» форму триходермы, которые не обладают защитной функцией в силу своей пассивности. Чтобы триходерма смогла оказать антибактериальное и фунгицидное действие и защитить растение от болезней, споры должны прорасти, т. е. перейти в активную форму. Этот процесс не происходит мгновенно, для этого требуется время. Поэтому лучше изучить «маточный состав» биопрепаратов, так как в них может содержаться посторонняя микрофлора, или они могут иметь низкую концентрацию биоагента, а это приведёт к невысокой эффективности их применения. Таким образом, данное направление является актуальным, перспективным и имеет большое сельскохозяйственное значение.

**Цель:** сравнить качество биопрепаратов, изучить особенности культивирования грибов рода *Trichoderma* в условиях поверхностного выращивания.

Для достижения поставленной цели необходимо решить ряд **задач:**

1. Освоить методики исследования.
2. Подобрать рациональную среду для культивирования.
3. Определить наличие грибов рода *Trichoderma* в биопрепаратах, выпускаемых разными фирмами.
4. Проанализировать полученные результаты и сделать выводы.

**Гипотеза:** не все промышленные биопрепараты содержат культуру гриба рода *Trichoderma*.

**Объект исследования:** биопрепараты «Плодородная почва», «Триходерма вериде», «Трихофлор», «Глиокладин».

**Предмет исследования:** наличие грибов рода *Trichoderma* в биопрепаратах.

**Методы исследования:** культивирование микроорганизмов, визуальное наблюдение, сравнение, анализ.

# 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

## 1.1. Грибы рода *Trichoderma*

В последнее время в сельском хозяйстве используют биологические препараты, в составе которых есть споры разных грибов. Самыми известными являются грибы рода *Trichoderma*. Благодаря способности этих грибов подавлять разные грибные заболевания, *Trichoderma* применяется в разных биологических методах защиты растений и входит в состав многих препаратов. А обработанная почва микромицетами *Trichoderma* становится устойчивой к разным микозам. Поэтому многие аграрии используют грибы этого рода для биоочистки почв и переработки отходов [4].

Грибы рода *Trichoderma* – это свободноживущие грибы, которые распространены в почвенных и корневых экосистемах. *Trichoderma* имеет бесцветный или светлый мицелий, который образует зелёные-тёмно-зелёные конидии. Эти грибы встречаются практически во всех климатических зонах. В том числе и в субтропиках, лесных зонах, богатых органическими остатками. В России гриб этого рода особенно распространён в почвах тайги. Богатая на органические вещества почва, а также благоприятные температуры создают отличные условия для размножения этих грибов. Некоторые формы или виды *Trichoderma* встречаются на влажных стенах зданий, внутри стволов деревьев и на живом разлагающемся мицелии других грибов. Темпы роста этих микроорганизмов на различных субстратах при различных температурах могут оказаться одинаковыми [5].

***Trichoderma viride*** (триходерма зелёная). Самая известная и часто применяемая в биологических препаратах. Она – санитар почвы, так как является лучшим уничтожителем растительных остатков, которые инфицированы патогенами.

В начале своего появления *viride* имеет бесцветный мицелий, который в последующем быстро разрастается и приобретает зелёный цвет. Именно *Trichoderma viride* используют для приготовления биопрепаратов, например

Триходермин. Триходермины используют для подавления в почве возбудителей, гнили и инфекционных заболеваний сельскохозяйственных растений.

**Trichoderma harzianum** – в отличие от *Trichoderma viride*, *harzianum* не обладает такими сильными санитарными свойствами, но её активно применяют, как стимулятор роста и в качестве агентов биоконтроля фитопатогенных грибов [3, 9].

## 1.2. Факторы среды, влияющие на рост микромицетов

### **Trichoderma**

На рост микромицетов *Trichoderma* оказывают влияние множество факторов. Одним из основных является относительная влажность атмосферного и почвенного воздуха. Этот фактор способен влиять на произрастание спор и развитие вегетативной части грибов. Также не мало важным условием является температура. По температурной чувствительности *Trichoderma* делят на 3 вида: психрофилы (от 4 до 30 градусов Цельсия), мезофилы (от 20 до 40 градусов Цельсия) и термотолерантные виды (максимальное 90 градусов Цельсия). Оптимальные температурные границы колеблются от 24 до 30 градусов. Изменение реакций среды также является важным фактором роста микромицетов *Trichoderma*. Неблагоприятные изменения приводят к остановке роста организма, не смотря на остальные оптимальные условия среды [6].

Кроме того, грибы рода *Trichoderma* могут изменять pH почвы. Эта способность может снижать заразность фитопатогенов, потому что большинство соединений (факторов патогенности), не может синтезироваться в широком диапазоне pH, и действует только в пределах только в пределах очень узкого диапазона [1].

### **1.3. Использование грибов рода *Trichoderma* в защите растений**

Грибы этого рода нашли широкое применение в сельском хозяйстве, для производства пищевых продуктов и в целлюлозно-бумажной и текстильной промышленности. Особенностью этих грибов является то, что они способны паразитировать на растениях, не нанося им вреда.

*Trichoderma* способна подавлять развитие других организмов, разрушать целлюлозу, тем самым очищая почву и утилизируя отходы. При размножении этот гриб выделяет глиотоксин, сацуккалин, триходермин, виридин – антибиотики, способные убивать возбудителей многих болезней [7]. Например, *Trichoderma* применяют против почвенных нематод в теплицах и на открытом грунте. В борьбе с фитофторой, мучнистой росой, серой гнилью, бурой пятнистостью. При уничтожении милдью и оидиум на винограде, ризоктониозом на картофеле, а использование *Trichoderma* на огурцах помогает снизить заражение белой гнилью [15].

Разлагая в почве остатки органических веществ, *Trichoderma* наделяю почву азотом, фосфором и калием, а также другими питательными веществами, влияющие на рост растений. А способность *Trichoderma* усиливать активность выработки клеточного сока в растениях, дает возможность усилить иммунитет и улучшить урожай. Кроме того, есть информация о том, что метаболиты триходермы снижают жизнедеятельность насекомых [9].

Биопрепараты, в составе которых есть грибы рода *Trichoderma* на сегодняшний день в сельском хозяйстве считаются самыми эффективными препаратами в защите растений от вредителей и болезней. Их основным преимуществом является то, что они совершенно безопасны для человека и животных, а также для окружающей среды [15].

## 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Исследуемые препараты



«Триходерма вериде» – биопрепарат для защиты растений от болезней. В его основе – дружественные культурным растениям микроскопические грибы, подавляющие более 60 видов болезнетворных микробов. Защищает от корневых и плодовых гнилей, чёрной ножки, белой и серой гнили, макроспориоза, фузариоза, фитофтороза, антракноза, вилта и др.

Попадая во влажную почву, споры *Trichoderma* прорастают, выделяя природные «антибиотики» и обеззараживая почву вокруг. При этом препарат обладает длительным действием: уничтожает покоящиеся и зимующие стадии патогенов. Попадая на поврежденный участок больного растения, споры прорастают, питаются больной тканью, и одновременно лечат растение.

«Триходерма вериде» не только защищает растения, но повышает их урожайность, лежкость и качество продукции, стимулирует корневое питание, улучшает плодородие почвы, повышает всхожесть семян.

Состав: спорово-мицелиальная масса гриба Триходерма вериде, штамм 471 ГНУ ВНИИСХМ РАСХН, смачивающийся кристаллический порошок.

Изготовитель: ФГУ «Краснодарский экспериментальный центр биотехнологической защиты растений», Россия г. Краснодар по заказу ООО «Ваше хозяйство» [16].

**Субстрат «Плодородная почва»** представляет собой гранулы агроперлита, обогащённые мицелием изолятов грибов рода Триходерма с высокой способностью к разложению растительных остатков, антибиотической и гиперпаразитической активностью в отношении



фитопатогенов, в том числе вызывающих болезни цветочных и декоративных растений, а также фруктов и овощей при выращивании и хранении (*Fusarium*, *Alternaria*, *Phoma*, *Ascochyta*, *Verticillium*, *Sclerotinia*, *Botrytis*, *Septoria* и другие). Они защищают растения даже от фитофтороза и пероноспороза, что не так

легко сделать даже при помощи химически синтезированных пестицидов. Субстрат вызывает усиленный рост корней растений и в значительной степени способствует увеличению урожая, предназначен для увеличения плодородия почвы. При этом Триходерма субстрата «Плодородная почва» очень дружелюбна к полезным грибам, способствуют микоризации корней.

Состав: посевной материал грибов рода *Trichoderma* RP1-12 на агроперлите.

Изготовитель: РБ (ИП Лабков Д.М.), Беларусь г. Минск [8].



«Трихофлор» – биологический препарат для борьбы с грибными заболеваниями овощных и цветочно-декоративных культур открытого и защищенного грунта. Защищает от корневых и плодовых гнилей, чёрной ножки, макроспориоза, фузариоза, фитофтороза, антракноза, вилта и др. Длительный период воздействия (уничтожает покоящиеся и зимующие стадии патогенов). Повышает урожайность, лёжкость и качество продукции.

Стимулирует корневое питание, улучшает плодородие почвы, повышает всхожесть семян.

Состав: живые клетки гриба *Trichoderma viride*, гранулы.

Изготовитель: ООО «БИОМ-ПРО» по заказу ГК «Евро-семена», ООО

«Доктор Грин», Россия г. Москва [17].



## «Глиокладин»

– биологический почвенный фунгицид на основе полезного почвенного гриба *Trichoderma harzianum*, эффективно подавляющий развитие и распространение возбудителей корневых, прикорневых

гнилей, увяданий томата, огурца и других культур защищенного грунта, а также возбудителей фитофтороза, белой гнили, серой гнили.

Состав препарата: гриб *Trichoderma harzianum*, ВИЗР -18, таблетки.

Изготовитель: ООО «Агробиотехнология-Шебекино», Россия г. Шебекино; ООО «АгроБиоТехнология», Россия г. Москва по заказу АО «Щёлково Агрохим» [11,12].

## 2.2. Методика исследования

### Место и сроки проведения

Опыт был заложен в лабораторных условиях на базе БУ ОО ДО «Орловская станция юных натуралистов».

Опыт был заложен 27 октября 2022 года. В процессе опыта были сделаны авторские фотографии.

### Схема опыта

Опыт был заложен с использованием биопрепаратов, выпускаемых разными фирмами. В таблице 1 представлена схема опыта.

### Схема опыта

Вариант	Биопрепарат
В1	«Глиокладин» АБТ групп
В2	«Глиокладин» Октябрина Апрельевна
В3	«Триходерма вериде»
В4	«Трихофлор»
В5	«Плодородная почва»

Опыт был заложен в двукратной повторности.

### Физико-химические факторы среды

При поверхностном способе культивирования грибы выращивают на поверхности плотной, сыпучей среды или в жидкой среде, при этом микроорганизмы получают кислород непосредственно из воздуха, так как грибы рода *Trichoderma* являются аэробами. Для культивирования используют комплексные питательные среды, имеющие в своём составе как источник углерода, так и источник азота [10].

Факторы среды, влияющих на рост и развитие грибов рода *Trichoderma*:

- Реакция среды – рН от 4 до 5.
- Температура культивирования от 22 до 34°С.
- Режим аэрации.
- При твёрдофазном культивировании – достаточная влажность субстрата.

### Культивирование грибов рода *Trichoderma* на жидкой среде

В качестве жидкой среды использовали минеральный раствор с добавлением сахарозы, как источника энергии (по методике И.А. Русских).

Приготовление жидкой питательной среды:

- вода (бутилированная);
- комплексное минеральное удобрение (Fertika Люкс, разведённое по инструкции);
- столовый сахар (20 г на 1 л воды).



*Рисунок 1. Заселение жидкой среды*

При культивировании объём питательной среды в колбах не превышал 60% от объёма колбы. Засеянные колбы были оставлены при температуре 25-26°C (рис.1). Продолжительность культивирования составляла от 2 до 4 суток.

### 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В течение постановки опыта по особенностям культивирования грибов рода *Trichoderma* в условиях поверхностного выращивания проводили соответствующие наблюдения.

Результаты опыта по выращиванию микромицет на жидкой среде представлена в таблице 2.

Таблица №2

#### Культивирование грибов рода *Trichoderma* на жидкой среде

Вариант	Проращивание спор	Конидиеобразование	Чистота биоагента
<b>В1</b>	на 2-е сутки	интенсивное на 4-е сутки	наличие посторонней микрофлоры
<b>В2</b>	на 2-е сутки	интенсивное на 4-е сутки	наличие посторонней микрофлоры
<b>В3</b>	на 4-е сутки	интенсивное на 7-е сутки	наличие посторонней микрофлоры
<b>В4</b>	на 4-е сутки	отсутствие микромицет рода <i>Trichoderma</i>	-
<b>В5</b>	на 2-е сутки	очень интенсивное на 3-е сутки	чистый

Как видно из таблицы 2, споры грибов проросли на 2-е сутки в вариантах В1, В2 и В5 вначале в виде бесцветного мицелия, который быстро разросся, особенно быстро в варианте В5, а в вариантах В3 и В4 споры проросли только на 4-е сутки.

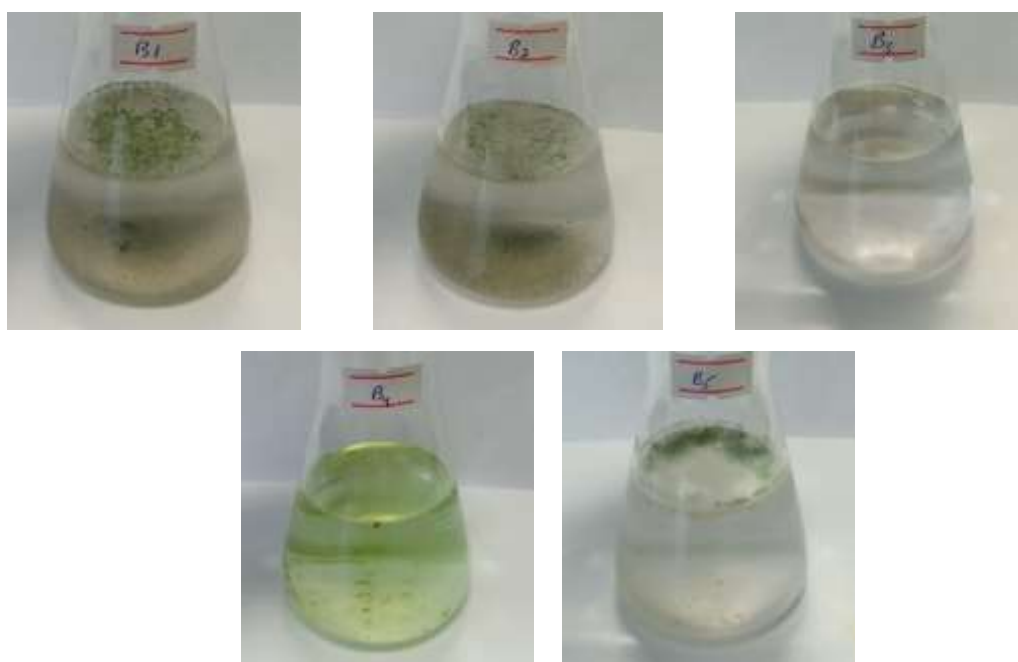


Рисунок 2. Культивирование микромицет по вариантам, 4-е сутки

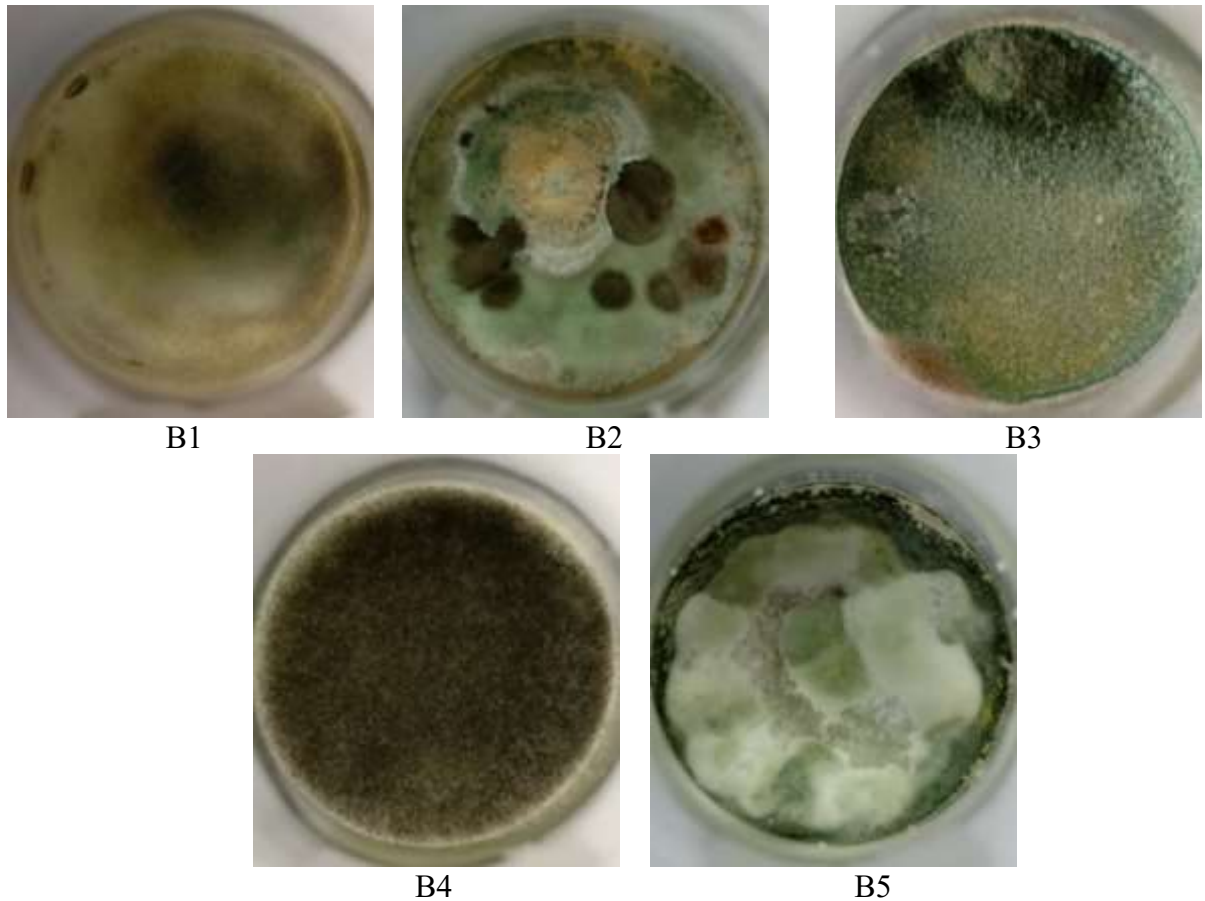
На 3-е, 4-е сутки начался процесс конидиеобразования в вариантах В5, В1 и В2 соответственно, колонии этих микроскопических грибов приобрели зелёный цвет (рис. 2).



Рисунок 3. Культивирование микромицет по вариантам, 10-е сутки

Интенсивность спорообразования по вариантам неодинакова (рис. 3), самое интенсивное конидиеобразование наблюдалось в варианте В5. Варианты В1, В2, В3 загрязнены посторонней микрофлорой, а в варианте В4 отсутствует микромицет рода *Trichoderma*, так как колонии этих грибов бывают различных оттенков, от лимонно-жёлто-зелёного цвета до тёмно-зелёного, но не чёрного.

Штаммы грибов рода *Trichoderma* в вариантах В1, В2, В3 оказали разное по силе воздействие на мицелий посторонних грибов.



*Рисунок 4. Культивирование микромицет по вариантам, 20-е сутки*

Биологическая активность штамма грибов рода *Trichoderma* (рис. 4) в варианте В3 оказалась достаточно высокой, поэтому мицелий быстро вырос, захватил и уничтожил мицелий посторонних грибов, чего не наблюдали в вариантах В1 и В2.

## **ВЫВОДЫ**

В результате проведённого исследования можно сделать следующие выводы:

1. Биопрепарат «Плодородная почва» – качественный биопрепарат, содержащий монокультуру.
2. Биопрепараты «Глиокладин» АБТ групп, «Глиокладин» Октябрина Апрельевна, «Триходерма вериде» содержат большое количество посторонней микрофлоры.
3. Биопрепарат «Трихофлор» не содержит живых спор.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Из биологических агентов, нашедших наибольшее практическое применение в биологической борьбе с болезнями растений, ведущая роль отводится грибам рода *Trichoderma*.

Изучив, особенности культивирования грибов рода *Trichoderma* в условиях поверхностного выращивания, оценив качество биопрепаратов, выпускаемых разными фирмами можно утверждать, что биопрепараты «Глиокладин» АБТ групп, «Глиокладин» Октябрина Апрельевна, «Триходерма вериде», содержащие постороннюю микрофлору будут обладать заведомо невысокой эффективностью применения, а биопрепарат «Трихофлор», не содержащий живые споры – это фальсификат, нарушение технологии производства или прямой обман производителя. Таким образом, только биопрепарат «Плодородная почва» можно рекомендовать для использования.

В результате проведенного исследования подтверждена выдвинутая гипотеза, цели и задачи выполнены.

Исследования в этом направлении будут продолжены.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алимова, Ф. К. Промышленное применение грибов рода *Trichoderma* / Ф. К. Алимова. – Казань: Казанский государственный университет им. В. И. Ульянова-Ленина, 2006. – 209 с.
2. Биологический метод защиты растений: курс лекций / сост. О. Б. Котельникова. – изд. перераб. и доп. – Курск: Курская ГСХА, 2022. – 74 с.
3. Жизнь растений. Грибы / гл. ред. А. А. Федоров; под ред. М. В. Горленко. Т.2 – Москва: Просвещение, 1976. – 479 с.
4. Колобков, Е. В. Триходерма в жизни растений / Е. В. Колобков. – Свердловск; 1990. – 76 с.
5. Переведенцева, Л. Г. Микология: грибы и грибоподобные организмы: учебник / Л. Г. Переведенцева. – 2-е изд., испр. и доп. – Санкт-Петербург: Лань, 2012. – 272 с.
6. Попов, И. Б. Применение микроорганизмов в защите растений: учеб. пособие / И. Б. Попов, А. И. Белый, А. С. Замотайлов. – Краснодар: Изд-во КубГАУ, 2019. – 125 с.
7. Токсины фитопатогенных грибов и их влияние на сельскохозяйственную продукцию: учеб. пособие / сост. Г. Б. Демьянова-Рой [и др.]. – Караваево: Костромская ГСХА, 2017. – 46 с.
8. Procvetok® Субстрат Плодородная Почва (грибы *Trichoderma* RP1-12) 0,25 л – биопрепараты – Режим доступа: свободный. – Текст: электронный – URL: <https://procvetok.ru/biopreparaty/procvetok-substrat-plodorodnaya-pochva-griby-trichoderma-rp1-12-0-25-l/> (дата обращения: 22.11.2022 г.).
9. Гриб триходерма от болезней растений: чем полезна, где найти, как применять – Режим доступа: свободный. – Текст: электронный – URL: <https://www.kp.ru/family/sad-i-ogorod/grib-trikhoderma/> (дата обращения 18.12.2022).
10. Зиганшин, Д. Д., Сироткин А. С. Особенности глубинного и поверхностного культивирования грибов *Trichoderma* для получения биопрепаратов на основе клеток гриба / Вестник технологического университета. 2017. Т.20, №10 – Текст: электронный – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/osobennosti-glubinnogo-i-poverhnostnogo-kultivirovaniya-gribov-trichoderma-dlya-polucheniya-biopreparatov-na-osnove-kletok-griba/viewer> (дата обращения: 07.11.2022)
11. Препарат – URL: АгроБиоТехнология <https://bioprotection.ru/product/gliokladin-tab-100> (дата обращения: 22.11.2022 г.) – Режим доступа: свободный. – Текст: электронный.;
12. Глиокладин – URL: [https://aprelevna.ru/produkcija/zawita\\_ot\\_boleznej/gliokladin\\_tab/](https://aprelevna.ru/produkcija/zawita_ot_boleznej/gliokladin_tab/) (дата обращения: 22.11.2022 г.).

- 13.Рогозин, М. Ю. Экологические последствия применения пестицидов в сельском хозяйстве / М. Ю. Рогозин, Е. А. Бекетова. – Текст: непосредственный // Молодой ученый. – 2018. – № 25 (211). – С. 39-43. – URL: <https://moluch.ru/archive/211/51593/> (дата обращения: 28.10.2022).
- 14.Список видов Trichoderma – Википедия – Режим доступа: свободный. – Текст: электронный – URL: [https://en.wikipedia.org/wiki/List\\_of\\_Trichoderma\\_species](https://en.wikipedia.org/wiki/List_of_Trichoderma_species) (дата обращения: 28.10.2022).
- 15.Триходерма в нашей жизни – Режим доступа: свободный. – Текст: электронный – URL: <https://vk.com/@newproba-trihoderma-v-nashei-zhizni> (дата обращения 18.12.2022).
- 16.Триходерма вериде, биопрепарат для защиты растений от болезней – описание, инструкция по применению, отзывы – Режим доступа: свободный. – Текст: электронный – URL: [https://www.vhoz.ru/catalog/tovary\\_dlya\\_sada\\_i\\_ogoroda/sredstva\\_zashchity\\_rasteniy\\_ot\\_bolezney/trikhoderma-veride-biopreparat-dlya-zashchity-rasteniy-ot-bolezney/](https://www.vhoz.ru/catalog/tovary_dlya_sada_i_ogoroda/sredstva_zashchity_rasteniy_ot_bolezney/trikhoderma-veride-biopreparat-dlya-zashchity-rasteniy-ot-bolezney/) (дата обращения: 22.11.2022 г.).
- 17.Трихофлор ® (биопрепарат) Средства от болезней растений (фунгициды) | euro-semena.ru – Режим доступа: свободный. – Текст: электронный – URL: <https://www.euro-semena.ru/sredstva-ot-bolezney-rastenij-fungicidy-trihoflor-biopreparat-sredstva-ot-bolezney-rastenij-fungicidy-trihoflor> (дата обращения: 22.11.2022 г.).