

ПЕРСПЕКТИВА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГРИБОВ РОДА *PENICILLIUM* В СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ

PERSPECTIVE OF USING FUNGI OF THE GENUS *PENICILLIUM* IN AGRICULTURE

Сырбу Т.¹, Щербачова Т.²

¹ ИМБ, Республика Молдова

MD-2028, Республика Молдова, ул. Академическая, 1

E-mail: tfsirbu@gmail.com

² ИГФЗР, Республика Молдова

MD-2002, Республика Молдова, ул. Лесная, 20

E-mail: tscerb@gmail.com

Исследуя антифунгальную активность в отношении фитопатогенов и влияние экзометаболитов (ЭМ) мицелиальных грибов *Penicillium funiculosum* CNMN FD 11 и *Penicillium corylophilum* CMNM FD 20 на всхожесть семян и рост огурцов было доказано, что они ингибируют патогены, а водный раствор ЭМ в соотношении 1:200 стимулирует всхожесть семян на 27,3% и рост ростков на 28,7%. Внекорневая обработка растений водным раствором ЭМ, проводимая в 2 этапа: 1-я — в фазе 3–4 листьев, 2-я — через 14 дней, норма расхода — 150 мл/растение при каждой обработке штаммом *Penicillium funiculosum* CNMN FD 11 может повысить урожайность огурцов на 31%, а ЭМ штамма *Penicillium corylophilum* CMNM FD 20 — на 10% по сравнению с контролем.

Ключевые слова: мицелиальные грибы, антифунгальная активность, экзометаболиты, всхожесть семян, рост растений, урожай.

Sirbu T.¹, Scerbacova T.²

¹ Institute of Microbiology and Biotechnology, Republic of Moldova

MD-2028, Republic of Moldova, Academiei Str., 1

E-mail: tfsirbu@gmail.com

² Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection, Republic of Moldova

MD-2002, Republic of Moldova, Padurii Str., 20

E-mail: tscerb@gmail.com

Investigating antifungal activity against plant pathogens and action of exometabolites (EM) of filamentous fungi *Penicillium funiculosum* CNMN FD 11 and *Penicillium corylophilum* CMNM FD 20 on the germination and growth of cucumber was proved that they inhibit pathogens, and the aqueous solution of EM in a ratio of 1:200 stimulates germination seed by 27.3% and sprout growth by 28.7%. Foliar treatment of plants with an aqueous solution of EM, carried out in 2 stages: 1st — in the phase of 3–4 leaves, 2nd — after 14 days, the consumption rate — 150 ml/plant for each treatment with *Penicillium funiculosum* CNMN FD 11 can increase the yield of cucumbers by 31%, and the EM strain of *Penicillium corylophilum* CMNM FD 20 — by 10% in comparison with control.

Key words: mycelial fungi, antifungal activity, exometabolites, seed germination, plant growth, harvest.

Современные тенденции развития сельского хозяйства предполагают широкое использование микробиометодов в качестве одного из элементов интегрированных систем защиты растений. Основу биопрепаратов могут составлять микробы-антагонисты, энтомопатогены и продукты их жизнедеятельности — биологически активные метаболиты. Мицелиальные грибы используют при промышленном получении антибиотиков, ферментов, статинов (*Aspergillus terreus*, *Monascus ruber*), гиббереллинов (*Fusarium*), каротиноидов, алкалоидов и органических кислот. Микромицеты являются продуцентами биологических препаратов для контроля вредных организмов сельскохозяйственного производства, а также могут быть иммунно- и рост стимуляторами растений (*Trichoderma*, *Penicillium*, *Coniothyrium*, *Arthrotrichum*, *Lecanicillium*, *Beauveria* и др.) [1–4].

Актуальность применения микробиопрепаратов в защите растений постоянно возрастает в связи с повышением продовольственной значимости экологически безопасных продуктов питания и кормов, а также увеличивающихся потерь пищевого сырья в результате заражения патогенными микроорганизмами.

Одной из альтернатив использования химических пестицидов в защите от фитопатогенов является внедрение в практику растениеводства биотехнологий, основанных на использовании антагонистических взаимоотношений микроорганизмов [5].

Одним из перспективных штаммов грибов-антагонистов в защите растений от патогенных микроорганизмов может быть гриб *Penicillium funiculosum* Thom.

Так, например, на основе гриба *Penicillium funiculosum* во ВНИИ масличных культур им. В.С. Пустовойта (РФ, Краснодар) создан жидкий препарат Фуникулозум (глубинное культивирование) для защиты подсолнечника от фомопсиса. Также этот препарат обладает фунгицидной активностью в отношении патогена *Sclerotinia*

sclerotiorum, вызывающего белую гниль, и оказывает стимулирующее действие на развитие корней проростков: длина корней увеличивалась на 58,9%, масса — на 55% [6].

Методы повышения плодородия почвы, обеспечивающие высокую урожайность овощей с применением дешевых биологических агроприемов, являются весьма актуальными. В этих методах, при которых обеспечение овощных основными элементами питания, их защиты от фитопатогенов, а также стрессовых воздействий достигается за счет использования биопрепаратов. Было доказано, что предпосевная обработка семян огурца биологическими препаратами значительно повышает энергию прорастания семян, улучшает их рост и развитие, формирование крепкой и здоровой рассады для пересадки в открытый или закрытый грунт. Так, использование фитофлавина с микроэлементами в дозе 2 г/кг увеличивало всхожесть семян огурца на 11,6%, иммуноцитифита в дозе 60 г/кг — на 10,7%, агрохита в дозе 0,04 г/кг — на 10,1%. Наибольшее стимулирующее действие на растения огурца оказал иммуноцитифит в дозе 60г/кг для обработки семян и 60г/га для опрыскивания растений: прибавка составила 80,9 ц/га (66,4%), товарность при этом повысилась на 13,9% [7]. Биопрепарат Елена, Ж на огурцах и томатах защищенного грунта активен в отношении возбудителей корневых гнилей тепличных растений (биологическая эффективность до 73,08%), также положительно влияет на биометрические показатели и данные по урожайности (прибавка урожая по отношению к контролю до 40,0%) [8].

Замачивание семян огурца биопрепаратами биогу-мус, гумми и альбит ускоряли набухание, наклевывание, улучшая их посевные качества, всхожесть и энергию прорастания, формирование вегетативных органов и развитие качественной рассады. Применение биопрепаратов в защищенном грунте при пленочном укрытии

в весенне-летней теплице оказывает положительное действие на рост и развитие растений огурца. Эффективное действие на урожай огурцов оказывают биогу-мус и гумми [9, 10].

Сенаторова Н.Н. и др. для защиты огурца от корне-вых гнилей и повышения урожайности в условиях защи-щенного грунта рекомендует комплексное применение биопрепаратов на основе грибов рода *Trichoderma* (при посеве в лунку и в фазу 4–5 настоящих листьев по 200 мл 0,5% суспензии под каждое растение) с использова-нием регулятора роста циркона для замачивания семян в рабочем растворе при норме расхода препарата 12,5 мл/л/кг и опрыскивании им культуры в фазу бутониза-ции из расчета 30 мл/га [11–13].

Целью исследования являлось определение анти-фунгальной активности и влияние метаболитов микро-мицетов рода *Penicillium* на семена и растения огурцов.

Материалы и методы

В качестве объекта исследования использовали ми-целиальные грибы *Penicillium funiculosum* CNMN FD 11 и *Penicillium corylophilum* CNMN FD 20 из Национальной Коллекции Непатогенных Микроорганизмов Молдовы.

В опытах был использован спектр фитопатогенных грибов: *Aspergillus niger*, *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*; *Fusarium solani*, *F. oxysporum* — возбудителей заболеваний плодовых, ягодных, овощных, технических культур и винограда.

Антифунгальную активность грибов определяли ме-тодом агаровых блоков (среда Чапека с глюкозой) и ме-тодом металлических цилиндров (по 1 мл комплекса экзо-метаболитов (ЭМ)) [14].

Для получения комплекса ЭМ изучаемые грибы вы-ращивали в жидкой питательной среде Чапека, при температуре 28...30°C, в течение 6 суток на микробио-логической качалке с периодом вращения 180 об/мин. Культуральную жидкость, содержащую комплекс экзо-метаболитов (ЭМ) *Penicillium funiculosum* CNMN FD 11 и *Penicillium corylophilum* CNMN FD 21, отделяли от био-массы центрифугированием. Затем готовили разведе-ния культуральной жидкости (1:50; 1:100; 1:200; 1:300 и 1:500).

Ростстимулирующее действие экзо-метаболитов (ЭМ) изучали, используя семена огурцов сорта Род-ничок. Проводили лабораторные и полевые опыты. В лабораторных опытах семена огурцов замачивали в растворе ЭМ исследуемых микромицетов. Контролем служили семена, замоченные в воде. Семена помеща-ли в специальные коробки со стерильной почвой, затем проращивали в термостате в течение 4 суток при тем-пературе 25 °C, влажность почвы составила 50–60%. Каждый вариант состоял из 3 повторностей по 20 семян.

Учет всхожести, вес корней и длину проростков прово-дили на 4-й день проращивания. Среднее вычисляли по трем повторностям [9]. В полевых опытах тестировали только концентрацию ЭМ 1:200. Каждый вариант состо-ял из 3 рядов по 7 растений. Проводили внекорневую обработку растений во время вегетативного роста ме-таболитами гриба *Penicillium funiculosum* CNMN FD 11 и *Penicillium corylophilum* CNMN FD 20 в 2 этапа: 1-я — в фазе 3–4 листьев, 2-я — через 14 дней, норма расхо-да — 150 мл/растение при каждой обработке (30л/га), а в контроле обработку проводили водой. Определяли высоту растений и урожайность.

Статистическую обработку результатов осущест-вляли с помощью встроенного статистического пакета Excel (MS Office 2007).

Результаты и обсуждение

Были проведены исследования по определению ан-тифунгальной активности штаммов методом агаровых блоков на агаризованной среде Чапека, а также было проведено изучение влияния экзо-метаболитов (ЭМ), полученных в результате глубинного культивирования штаммов, на патогены (табл. 1).

В результате эксперимента отмечено, что штаммы оказывают ингибирующее действие на исследуемые патогены: зоны задержки роста методом агаровых бло-ков составляют для штамма *P. funiculosum* CNMN FD 11 17,3–20,7 мм, а для штамма *Penicillium corylophilum* CNMN FD 20 — 20,7–26,7 мм. Экзо-метаболиты, полу-ченные при культивировании *P. funiculosum* CNMN FD 11 на жидкой питательной среде, также оказывали инги-бирующее действие на патогены: зоны задержки роста *Fusarium solani* и *F. oxysporum* были в два раза больше, чем при влиянии штамма, растущего на агаризованной среде, и составили соответственно 40,2 мм и 45,3 мм, а ЭМ штамма *Penicillium corylophilum* CNMN FD 20 оказы-вали почти такое же действие.

Далее были проведены лабораторные опыты по изу-чению влияния ЭМ микромицетов *P. funiculosum* CNMN FD 11 и *Penicillium corylophilum* CNMN FD 20 на всхо-жесть семян и рост ростков огурцов.

Результаты, полученные в лабораторных опытах (рис. 1), показали, что ЭМ штамма *P. funiculosum* CNMN FD 11 в малых концентрациях (1:200 и 1:300) могут сти-мулировать всхожесть семян и рост корней, а в больших концентрациях (1:50; 1:100) ингибируют эти показате-ли. Таким образом, в варианте 1:200 получена самая высокая всхожесть семян — 127,3% по сравнению с контролем.

Для штамма *Penicillium corylophilum* CNMN FD 20 самые лучшие показатели были получены в варианте с концентрацией ЭМ 1:200, в котором всхожесть семян превышала контроль на 27,3 % а длина ростков — на 28,7%. В остальных вариантах ис-следуемые показатели в пределах контроля.

Можно предположить, что сти-муляция физиологических и биохи-мических процессов в растениях, в результате обработки ЭМ, произо-шла за счёт биоактивных веществ, которые содержатся в суспензии ЭМ (ферменты, фитогормоны, витами-ны и др.).

Исходя из полученных данных в лабораторных опытах, на втором этапе исследования мы проводили полевые опыты, где тестировали на

Таблица 1.

Диаметр зон задержки роста тест культур под воздействием экзо-метаболитов изучаемых штаммов

Штаммы	Вариант	Тест-культуры, диаметр зон задержки роста (мм)				
		<i>A. niger</i>	<i>Alt. alternata</i>	<i>B. cinerea</i>	<i>F. solani</i>	<i>F. oxysporum</i>
<i>Penicillium funiculosum</i> CNMN FD 11	Среда Чапек	17,3±1,7	20,7±1,3	17,3±1,3	18,7±1,3	17,3±1,7
	ЭМ	10,0±0,3	22,4±1,2	22,3±0,8	40,2±0,9	45,3±0,2
<i>Penicillium corylophilum</i> CNMN FD 20	Среда Чапек	22,0±2,3	20,7±1,3	26,7±1,3	23,3±2,4	23,0±3,0
	ЭМ	20,0±0,3	25,7±1,3	27,5±1,5	28,5±1,5	25,3±2,0

растениях только концентрацию ЭМ 1:200. Через неделю после каждой обработки были проведены измерения роста растений. На рис. 3 показаны данные, полученные в полевых опытах, которые доказывают стимулирующий эффект ЭМ на рост растений и урожай огурцов.

После первой обработки растений водным раствором ЭМ грибов наблюдался активный рост растений по сравнению с контрольным вариантом, а после 2-ой обработки активность роста была почти на уровне контроля.

На урожайность огурцов ЭМ исследуемых штаммов микромицетов повлияли по-разному. В вариантах с использованием растворов ЭМ штамма *Penicillium funiculosum* CNMN FD 11 был получен урожай на 31% больше, чем в контроле, а в вариантах с ЭМ штамма *Penicillium corylophilum* CNMN FD 20 урожай повысился незначительно (110% к контролю).

Выводы

Проведенные исследования показали, что исследуемые штаммы в той или иной степени способны подавлять рост фитопатогенных грибов. Они являются наиболее активными антагонистами против фитопатогенных грибов *r.Fusarium*.

Водный раствор экзометаболических исследуемых штаммов *Penicillium funiculosum* CNMN FD 11 и *Penicillium corylophilum* CNMN FD 20 в соотношении 1:200 стимулирует всхожесть семян огурцов и рост ростков.

Внекорневая обработка растений в 2 этапа: 1-я — в фазе 3–4 листьев, 2-я — через 14 дней, норма расхода — 150 мл/растение при каждой обработке водным

Рис. 1. Влияние метаболитов *Penicillium funiculosum* CNMN FD 11 на всхожесть семян и рост огурцов

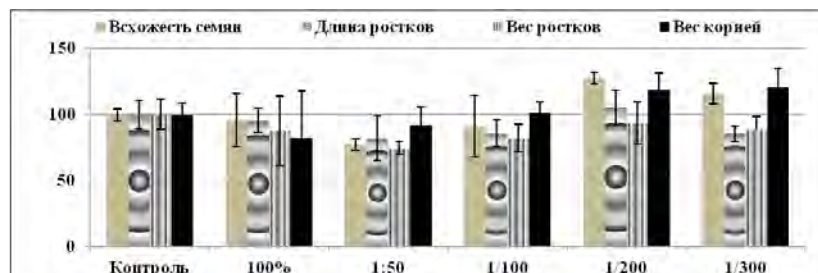


Рис. 2. Влияние метаболитов *Penicillium corylophilum* CNMN FD 20 на всхожесть семян и рост огурцов

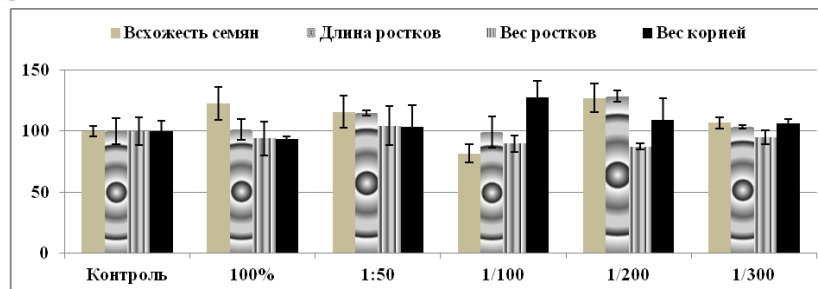
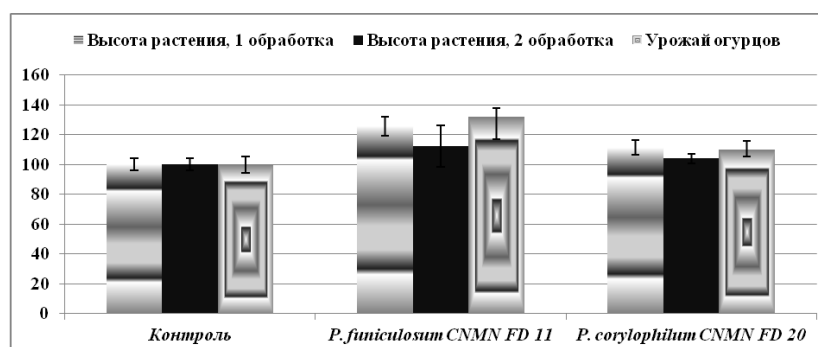


Рис. 3. Влияние экзометаболических микромицетов на рост растений и урожай огурцов



раствором ЭМ *Penicillium funiculosum* CNMN FD 11 может повысить урожайность огурцов на 31% по сравнению с контролем.

ЛИТЕРАТУРА

1. Михайлова Р. Мацерирующие ферменты мицелиальных грибов в биотехнологии // Белорусская наука, 2007/ 406 с.
2. Махова Е.Г., Громовых В.С., Рязанова Т.В. Использование видов *Trichoderma* для твердофазной ферментации отходов лесной промышленности // Материалы 1-го съезда микологов России. Раздел 12. Москва, 2002. с. 301.
3. Семенина Т.В. Биопрепараты и регуляторы роста растений для обработки семян зерновых культур // Защита и карантин растений. 2006. № 2. с. 24.
4. Щербак Т. Биотехнология производства и применения биопрепарата на основе гриба *Trichoderma virens* для защиты сои от корневых гнилей // Автореферат дисс. канд. биологических наук. Кишинэу, 2013. 30 с.
5. Монастырский О.А., Першакова Т.В. Современные проблемы и решения создания биопрепаратов для защиты сельскохозяйственных культур от возбудителей болезней // Научно-практич. журн. АГРО XXI. 2009. nr. 7-9, с. 3-5.
6. Маслиенко Л.В., Шипиловская Е.Ю., Асатурова А.М. Перспективные биологические агенты для защиты подсолнечника от возбудителя фомопсиса // Информационный бюллетень ВПРС МОББ. С.-Пб., 2007. № 38. с. 164-166.
7. Киртаева Т.Н. Продуктивность огурца в зависимости от использования биологических препаратов при возделывании на продовольственные и семенные цели в условиях Примор-

ского края // Автореферат дисс. канд. сельскохозяйственных наук, Благовещенск, 2012. 25 с.

8. Кузина Е.В., Давлетшин Т.К., Силищев Н.Н., Логинов О.Н. Биологическая защита огурцов и томатов тепличного типа от корневых гнилей // Вестник ОГУ. 2011, №12(131), с. 198-201.

9. Ионов Л.П., Арсланова Р.А. Отзывчивость ранних сортов огурца на действие биопрепаратов в защищенном грунте при пленочном укрытии // Овощеводство и тепличное хозяйство. 2011, № 3, с. 30-34.

10. Ионов Л.П., Арсланова Р.А., Абакумова А.С., Щербак Н.С. Действие биопрепаратов на посевные качества семян огурца и формирование вегетативных органов рассады // Астраханский вестник экологического образования. 2017, №1, (39), с. 82-85.

11. Корсак И.В., Сенаторова Н.Н. Испытание биопрепаратов против корневых гнилей огурца в защищенном грунте // Известия ТСХА, вып.3, 2010, с. 115-122.

12. Сенаторова Н. Н. Защита огурца от корневых гнилей с использованием циркона, эпина-экстра и антагонистических микроорганизмов // Автореферат канд. биол. наук, Москва, 2012, 25 с.

13. Войтка Д. Микромицеты рода *Trichoderma* в защите огурца от болезней. Биологическое обоснование практического использования // LAP Lambert Academic Publishing, 2012. 140 с.

14. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. // Москва, Наука, 2004, 528 с.

REFERENCES

1. Mihailova R. Macerious fungi enzymes in biotechnology // Belarussian Nauka, 2007. 406 p.
2. Mahova E.G., Gromoviyh V.S., Reazanova T.V. Use of Trichoderma species for solid phase fermentation of forestry waste // Materials of the 1st congress of mycologists of Russia. Section 12. Moscow, 2002. p. 301.
3. Semykina T.V. Biological products and plant growth regulators for the treatment of grain seeds // Protection and quarantine of plants. 2006. № 2. p. 24.
4. Scerbacova T. Biotechnology of production and use of a biological product based on the fungus Trichoderma virens to protect soybean from root rot // PhD-thesis in biology. Chisinau, 2013. 30 p.
5. Monastyrski O.A., Pershakova T.V. Modern problems and solutions to create biological products to protect crops from pathogens // Научно-практич. Scientific and practical journals AGRO XXI. 2009. nr. 7-9, pp. 3-5.
6. Maslienko L.V., Shipievskaya E.Y., Asaturova A.M. Promising biological agents for the protection of sunflower against the causative agent of Phomopsis // VPRS MOBB Newsletter. S.-Petersburg, 2007. № 38. pp. 164-166.
7. Kirtaeva T.N. The productivity of cucumber, depending on the use of biological products in the cultivation of food and seed purposes in the conditions of Primorsky Krai // PhD-thesis in

agriculture. Blagoveshensk, 2012. 25 p.

8. Kuzina E.V., Davletshin T.K., Silishev N.N., Loginov O.N. Biological protection of cucumbers and tomatoes of greenhouse soil from root rot // Bulletin of OSU. 2011, №12(131), pp. 198-201.
9. Ionov L.P., Arslanova R.A. Responsiveness of early varieties of cucumber on the effect of biological products in greenhouses with film cover // Vegetable and greenhouse. 2011, № 3, pp. 30-34.
10. Ionov L.P., Arslanova R.A., Abakumova A.S., Scerbacova N.S. The effect of biological products on the sowing qualities of cucumber seeds and the formation of the vegetative organs of seedlings // Astrakhan Bulletin of Environmental Education. 2017, № 1(39), pp. 82-85.
11. Korsak I.V., Senatorova N.N. Test of biological products against root rot of cucumber in greenhouses // News TAA. 2010, vol. 3, pp. 115-122.
12. Senatorova N.N. Protection of cucumber from root rot using zircon, epin-extra and antagonistic microorganisms // PhD-thesis in biology. Moscow, 2012, 25 p.
13. Voitka D. Micromycetes of the genus Trichoderma in protecting cucumber from disease. Biological rationale for practical use // LAP Lambert Academic Publishing, 2012. 140 p.
14. Egorov N.S. Fundamentals of the theory of antibiotics.// Moscow: Nauka, 2004, 528 p.

ОБ АВТОРАХ:

Сырбу Т., кандидат биологических наук,
Щербакова Т., кандидат биологических наук,

ABOUT THE AUTHORS:

Sirbu T., PhD in Biology,
Scerbacova T., PhD in Biology