

ВПЛИВ ЕКСТРАКТІВ ШТАМІВ *TRICHODERMA* З АНТИБІОТИЧНОЮ АКТИВНІСТЮ НА РІСТ ПРОРОСТКІВ *AMARANTHUS HYPOCHONDRIACUS*

Сазонова К.С.^{1,2}, Савчук Я.І.²

¹ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, sazkarina7@gmail.com

²Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України

Abstract

The effect of extracts of *T. pseudokoningii* 2926, *T. koningii* 2768, *T. hamatum* 3078 strains on the growth of *Amaranthus hypochondriacus* seedlings was studied. The extracts in dilutions of 1:100 and 1:500 showed a high level of growth stimulating activity. The presence of biologically active metabolites with a stimulating effect on plants in the extracts of all strains of *Trichoderma* was proved.

Keywords: *Trichoderma*, crude extracts, *Amaranthus*, phytotoxic activity.

Вступ. *Trichoderma* - рід грибів родини *Hypocreaceae*, відноситься до мешканців ризосфери. В основному зустрічається в лісах і на сільськогосподарських угіддях, істотно пригнічує ріст фітопатогенних мікроорганізмів та регулює швидкість росту рослин [1]. Ендоефітні гриби є важливою частиною мікобіому рослин. Вони можуть перебувати в міжклітинних просторах рослини-господаря, не викликаючи видимих симптомів захворювання. Серед мікробів, які можуть сприятливо впливати на ріст рослин і безпосередньо атакувати патогенні гриби, одними з найкраще вивчених прикладів є ризосферні міцеліальні гриби роду *Trichoderma*, вони беруть участь у виробленні біоактивних метаболітів, які можуть забезпечити системну стійкість рослин і сприяти росту [2].

Представники *Trichoderma* знайшли широкий спектр практичного застосування в різних галузях виробництва. Зокрема, досить потужним напрямком використання корисних властивостей штамів *Trichoderma* є агропромисловий комплекс. Так, на основі високоактивних штамів *Trichoderma* розроблено велику кількість біопрепаратів з фунгіцидною активністю щодо фітопатогенних мікроміцетів. Штами *Trichoderma* завдяки ряду своїх фізіолого-біохімічних властивостей, зокрема, біосинтезу низькомолекулярних вторинних метаболітів з антифунгальною активністю здатні досить ефективно пригнічувати ріст фітопатогенних мікроміцетів. Однак, поряд з цим, ці вторинні метаболіти можуть проявляти і фітотоксичну дію щодо рослин. зокрема, штам *Trichoderma virens* продукує гліотоксин, віридин і гліовірин. Фітотоксичні ефекти гліотоксину і віридину є нижчими порівняно з їх антифунгальною дією [3], при цьому механізми їхньої токсичної дії на рослини ще вивчаються. Штами *Trichoderma* spp. продукують й інші метаболіти з фітотоксичною активністю. так, сполука б-пентил- α -пірон, який синтезують *T. viride* і *T. harzianum*, пригнічує ріст рослин [4]. Метаболіт гарзіанопіридон, виділений з *T. harzianum*, проявляла фітотоксичну активність щодо ряду сільськогосподарських культур.

Штами *T. koningii* продукують також групу сполук, що здатні інгібувати ріст рослин – конінгініни А і В [5].

Поряд з цим, штами *Trichoderma* здатні синтезувати сполуки з фітогормональною дією: *T. atroviride*, *T. virens* і *T. harzianum* – індол-3-оцтову кислоту (ІОК), *T. parareesei* – саліцилову кислоту, *Trichoderma* spp. – ІОК і гібереліни. Загалом штами *Trichoderma* синтезують до восьми власних фітогормональних сполук, які здатні впливати на баланс фітогормонів у рослинах і посилювати таким чином позитивний ефект їхнього застосування на рослинах [6].

Раніше нами [7,8] на основі скринінгу було відібрано три активні штами *Trichoderma* які характеризувались різновекторною антибіотичною активністю: штам *Trichoderma pseudokoningii* 2926 проявляв лише антифунгальну активність; штам *T. koningii* 2768 проявляв антифунгальну та антибактеріальну активність і штам *T. hamatum* 3078 проявляв лише антибактеріальну дію.

З огляду на це, метою роботи було дослідження фітотоксичного впливу екстрактів трьох штамів *Trichoderma* на ріст проростків *Amaranthus hypochondriacus*.

Матеріали та методи. Як об'єкти досліджень антифунгальної активності використано три штами грибів *Trichoderma pseudokoningii* 2926, *T. koningii* 2768, *T. hamatum* 3078. Досліджувані штами *Trichoderma* зберігаються у колекції культур мікроскопічних грибів відділу фізіології та систематики мікроміцетів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, що належить до Української колекції мікроорганізмів (УКМ).

Для оцінки фітотоксичного впливу екстрактів, відібраних штамів *Trichoderma* на ріст проростків було проведено біологічний аналіз у чашках Петрі, в якості тест-об'єкта використовували насіння *Amaranthus hypochondriacus*. Готували хлороформні екстракти *Trichoderma* штамів 2926, 2768 та 3078 у наступних розведеннях: нативне, 1:10, 1:100, 1:500, 1:1000 та 1:1500. Для проведення досліду екстракт розчиняли в СНCl₃ (1:3) і додавали до стерильного агару при ~40°C у в 9-сантиметрові чашки Петрі до його застигання. 3 мл хлороформу і агар (20 мл) використовували як контроль. Тридцять насінин *Amaranthus hypochondriacus* висівали на агар у трьох повтореннях для кожної у випадковій послідовності. Чашки Петрі з агаром поміщали в термостат для пророщування насіння при 28 °С в повній темряві. Після обробки вимірювали ріст проростків *Amaranthus hypochondriacus* (48 годин).

Результати та обговорення. Дослідження впливу екстрактів штамів *Trichoderma* на ріст проростків *Amaranthus hypochondriacus* показало їх різний характер активності в залежно від розведення (див. рис.1.).

Так, фітотоксичну активність проявляли нативні екстракти (без розведення). Зокрема, з трьох штамів своєю фітотоксичною активністю відрізнявся екстракт штаму 2768. За дії його екзометаболітів довжина проростків *A. hypochondriacus* становила на 67% менше в порівнянні з контролем. Екстракт штаму 2926 також проявляв досить високий рівень фітотоксичної дії, зокрема зменшення довжини проростків відбувалось на 46%. Дещо менший рівень

фітотоксичної активності демонстрував штам 3078 із зменшенням довжини проростків на 33% в порівнянні з контролем.

Однак, при розведенні екстрактів в 10 разів було показано, що вони не проявляли фітотоксичну активність. Зокрема, екстракт штаму 3078 в розведенні 1:10 стимулював ріст проростків *A. hypochondriacus* на 50% в порівнянні із контролем. Поряд з цим, екстракти усіх трьох досліджуваних штамів у розведенні 1:100 проявляли ріст-стимулюючу активність на проростки. Так, екстракти штамів 2926 та 2768 проявляли стимулюючу активність на ріст проростків на 50 та 54% більшу від контролю. Екстракт штаму 3078 на 58% збільшував довжину проростків у порівнянні з контролем. При розведенні екстрактів 1:500 було відзначено, що ріст стимулювальна активність штамів 2926 та 3078 зросла в порівнянні із розведеним в 100 разів. Так, екстракт штаму 2926 збільшував ріст проростків *A. hypochondriacus* на 83%, а штаму 3078 на 67% в порівнянні з контролем. При збільшенні розведення екстрактів з 500 до 1000 разів було показано, що їх стимульвальний ефект на ріст проростків значно зменшився. Так, при розведенні екстрактів 1:1000 штами 2926 та 2768 проявляли стимулювальну дію на ріст проростків в значеннях 17% від контролю. В той же час, екстракт штаму 3078 не проявляв жодного ефекту. В розведенні 1:1500 екстракти штамів 2926 та 2768 не проявляли активності. Однак, екстракт штаму 3078 збільшував довжину проростків на 25% від контролю.



Рис. 1. Дія екстрактів штамів *Trichoderma* spp. на проростки *Amaranthus hypochondriacus*

З огляду на викладене, можна зазначити, що значущої різниці в характері впливу на ріст проростків *A. hypochondriacus* в залежності від спектру антибіотичної активності екстрактів ми не спостерігали. Однак, слід зауважити, що екстракт штаму *T. koningii* 2768 проявляв найвищий рівень фітотоксичної активності та найменший рівень ріст стимулювальної активності в порівнянні з екстрактами інших досліджуваних штамів. Що може вказувати на наявність в його екстрактах більшої кількості сполук з фітотоксичною активністю. Поряд з цим, можна припустити, що штам *T. koningii* 2768 синтезує біологічно активні

метаболіти які здатні водночас проявляти антифунгальну і антибактеріальну активності, а також і характеризуватись фітотоксичною дією.

Висновки. Показано, що вплив екстрактів штамів *Trichoderma pseudokoningii* 2926, *T. koningii* 2768 та *T. hamatum* 3078 на ріст проростків мав неоднаковий характер і залежав від розведення. Так, нативні екстракти всіх штамів проявляли фітотоксичну активність. Зокрема під дією екстракту штаму *T. pseudokoningii* 2926 довжина проростків зменшувалась на 67% від контролю. Такий характер дії екстрактів, пояснюється наявністю речовин з фітотоксичною активністю та/або ріст стимулювальною активністю у високих концентраціях. Однак, при розведенні екстрактів в 100 та 500 разів спостерігали стимулювальну дію на ріст проростків *Amaranthus hypochondriacus*. Найбільш активний стимулювальний ефект спостерігали при дії екстракту *T. pseudokoningii* 2926 та *T. hamatum* 3078 при їх розведенні 1:500. Що вказує на наявність в екстрактах усіх трьох штамів речовин з ріст стимулювальною активністю.

Список використаної літератури:

1. In Vitro Antibacterial, Antifungal, Nematocidal and Growth Promoting Activities of *Trichoderma hamatum* FB10 and Its Secondary Metabolites / A. Baazeem та ін. *Journal of Fungi*. 2021. Т. 7, № 5. С. 331. URL: <https://doi.org/10.3390/jof7050331>.

2. Application of *Trichoderma* Strains and Metabolites Enhances Soybean Productivity and Nutrient Content / R. Marra та ін. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2019. Т. 67, № 7. С. 1814–1822. URL: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b06503>.

3. Characterization of major secondary metabolites produced in soilless mix by a formulated strain of the biocontrol fungus *Gliocladium virens* / R. D. Lumsden та ін. *Canadian Journal of Microbiology*. 1992. Т. 38, № 12. С. 1274–1280. URL: <https://doi.org/10.1139/m92-210>.

4. 6-Pentyl- α -pyrone from *Trichoderma harzianum*: Its Plant Growth Inhibitory and Antimicrobial Properties / H. G. Cutler та ін. *Agricultural and Biological Chemistry*. 1986. Т. 50, № 11. С. 2943–2945. URL: <https://doi.org/10.1080/00021369.1986.10867860>.

5. Koninginin B: a biologically active congener of koninginin A from *Trichoderma koningii* / H. G. Cutler та ін. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1991. Т. 39, № 5. С. 977–980. URL: <https://doi.org/10.1021/jf00005a035>.

6. Phytohormone Production Profiles in *Trichoderma* Species and Their Relationship to Wheat Plant Responses to Water Stress / M. Illescas та ін. *Pathogens*. 2021. Т. 10, № 8. С. 991. URL: <https://doi.org/10.3390/pathogens10080991>.

7. Sazonova K., Savchuk Ya., Antifungal potential of exometabolites from *Trichoderma* strains against phytopathogenic micromycetes // «Сучасні аспекти мікробіології, вірусології та біотехнології у воєнний та післявоєнний час». Збірник тез Міжнар. наук.-прак. конф. «Сучасні аспекти мікробіології, вірусології та біотехнології у воєнний та післявоєнний час» (15 – 16 листопада 2023). Київ, 2023.

8. Сазонова К., Савчук Я. Оцінка потенціалу антибіотичної активності екзометаболітів мікроміцетів роду *Trichoderma* щодо фітопатогенних бактерій // Мікробіологія в сучасному сільськогосподарському виробництві: матеріали XVI наукової конференції молодих учених (м. Чернігів, 25 жовтня 2023 р.) / Національна академія аграрних наук України, Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва. Чернігів : видавець Брагинець О. В., 2023. 80 с. ISBN 978-617-7570-71-3