

ВИКОРИСТАННЯ ПРЕПАРАТІВ *TRICHODERMA* ДЛЯ ЗНИЖЕННЯ АКТИВНОСТІ ФІТОПАТОГЕННИХ МІКРООРГАНІЗМІВ ПІД ЧАС КОМПОСТУВАННЯ РОСЛИННИХ РЕШТОК ОВОЧЕВИХ КУЛЬТУР

Рудь В.С., Зубченко Л.С.

КПІ ім. Ігоря Сікорського, rud.veronika@iim.kpi.ua

Abstract

This article is devoted to the use of Trichoderma to accelerate the composting process and reduce the activity of phytopathogenic microorganisms. The article presents the results of determining the glucose content in the soil during composting at different time intervals, which is an indirect indicator of the activity of cellulolytic enzymes of Trichoderma.

Keywords: *Trichoderma, composting, antagonistic activity, cellulolytic enzymes*

Вступ. Біомаса рослин, яка залишається після збору врожаю є перспективним джерелом поживних речовин для підтримання родючості ґрунтів. Проте найчастіше, особливо в домашніх господарствах, залишки рослин знищують шляхом спалювання, оскільки вони слугують джерелом патогенних інфекцій, які, залишаючись в ґрунті з рослинною біомасою, спричиняють зараження рослин в наступних сезонах. Крім того, біомаса багатьох рослин, особливо стебла, часто досить повільно розкладається в умовах відкритого ґрунту, залишаючись на наступний посадковий сезон, що спонукає людей викидати в сміття або спалювати стебла та коріння овочевих та інших культур. Компостування є одним з біологічних методів переробки органічних відходів сільськогосподарських виробництв. Рослинні рештки містять в своєму складі переважно целюлозу, геміцелюлозу та лігнін, які розкладаються в природних умовах тривалий час за рахунок активності ґрунтових мікроорганізмів. Пришвидшення процесу компостування можна досягти використанням біопрепаратів на основі грибів роду *Trichoderma* завдяки їхній здатності синтезувати комплекс целюлолітичних, геміцелюлолітичних та лігнінолітичних ферментів [1]. Серед целюлолітичних ферментів представники роду *Trichoderma* здатні синтезувати екзо- β -1,4-глюканазу, ендо- β -1,4-глюканазу та β -глюкозидазу. Вони каталізують гідроліз β -1,4-D-глікозидних зв'язків молекули целюлози. Екзо- β -1,4-глюканаза гідролізує β -1,4-глікозидні зв'язки переважно з кінців ланцюга з утворенням целобіози. Ендо- β -1,4-глюканази хаотично гідролізують внутрішні зв'язки целюлози, створюючи нові вільні кінці целюлози, які більш доступні для екзо- β -1,4-глюканази. β -глюкозидаза каталізує гідроліз коротколанцюгових олігосахаридів і целобіози до глюкози [2]. Розщеплення целюлози та геміцелюлози до глюкози є складним процесом, який вимагає синергічної дії целюлолітичних ферментів, що продукуються целюлолітичними мікроорганізмами. Глюкоза, вивільнена в процесі розщеплення целюлози, асимілюється грибами *Trichoderma* та іншими ґрунтовими мікроорганізмами. Незважаючи на те, що утворена глюкоза досить швидко асимілюється, її вміст в ґрунті в конкретний момент компостування опосередковано вказує на целюлолітичну активність ґрунтових мікроорганізмів та залишковий вміст полісахаридів, зокрема целюлозовмісної сировини в ґрунті.

Біопрепарати на основі грибів *Trichoderma* активно використовують як біофунгіциди для боротьби з грибковими фітопатогенами таких родів як *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Pythium* тощо. Антагоністична активність штамів *Trichoderma* обумовлена активністю ферментів, які руйнують клітинну стінку фітопатогенних грибів, прямою конкуренцією за поживні речовини, індукцією захисних реакцій рослин [1]. Синтез хітинази сприяє кращому проникненню міцелію *Trichoderma* в міцелій фітопатогенних грибів, відбувається руйнування клітинної стінки грибів, пригнічується ріст міцелію та утворення спор. Антибіотична дія *Trichoderma* обумовлена утворенням вторинних метаболітів з антимікробними властивостями. Серед них відомі трихоміцин, хлоротрихоміцин, антибактеріальні пептиди, які можуть діяти як антибактеріальні агенти та сприяти росту і розвитку рослин. *Trichoderma* здатна колонізувати корені рослин, утворюючи захисний шар, і захищає корені від інфікування патогенами [3].

Метою роботи було дослідити процес компостування рослинних решток овочевих культур під дією препарату *Trichoderma viride* та зниження фітопатогенної активності мікроорганізмів.

Матеріали та методи. Для постановки досліду з компостування у компостувальні ємності з 250 г ґрунту вносили по 3 г листя та стебел томатів. Перед внесенням біомасу томатів подрібнювали до розміру 3-5 см. Було поставлено 4 варіації досліду: в першу групу ємностей вносили спори *Trichoderma viride* у кількості $1 \cdot 10^5$ КУО/г ґрунту, в другій групі в кожен ємність вносили спори *Trichoderma viride* у кількості $1 \cdot 10^5$ КУО/г ґрунту та 0,003 г аміачної селітри, в третій групі в кожен ємність вносили спори *Trichoderma viride* у кількості $2 \cdot 10^5$ КУО/г ґрунту, в четверту групу, яка виступає контролем, додатково нічого не вносили. Періодично, у міру підсихання верхнього шару ґрунту проводили зволоження. Всі варіації дослідів проводили в трьох повторностях. Протягом компостування візуально оцінювали ступінь розкладання біомаси томатів у кожній варіації досліду та визначали вміст глюкози у ґрунті. Для визначення вмісту глюкози в ґрунті використовували метод, заснований на колориметричному визначенні оптичної густини розчину фериціаніду, надлишок якого залишився після реакції з глюкозою [4]. Розрахунок вмісту глюкози в ґрунті під час компостування проводили за калібрувальним графіком. Для його побудови готували серію еталонних розчинів шляхом розведення стандартного розчину глюкози з концентраціями: 0 – 1,6 мг/см³. В 11 пробірок вносили по 3 см³ стандартного розчину червоної кров'яної солі та по 1 см³ розчину глюкози відповідного розведення. Пробірки поміщали в киплячу водяну баню на 15 хвилин, після чого охолоджували під проточною водою. Готували розведення отриманих розчинів у 10 разів. Проводили вимірювання оптичної густини отриманих розчинів за допомогою спектрофотометра за довжини хвилі 400 нм в кюветі на 10 мм відносно дистильованої води. На основі отриманих даних будували калібрувальний графік залежності оптичної густини розчинів від концентрації глюкози.

Для визначення концентрації глюкози в ґрунті відбирали проби ґрунту по 2 г з кожної ємності, додавали по 10 см³ ацетатного буферного розчину з рН 5,5.

Проби витримували з буферним розчином протягом години, після чого відфільтровували через паперовий фільтр.

Для визначення вмісту глюкози відбирали по 1 см³ фільтрату кожної проби в пробірки та додавали по 3 см³ стандартного розчину червоної кров'яної солі. Пробірки поміщали в киплячу водяну баню на 15 хвилин, після чого охолоджували під проточною водою. Відбирали по 1 см³ розчину та доводили об'єм до 10 см³ дистильованою водою. Вимірювали оптичну густину утвореного розчину за тих самих умов, що і для еталонних розчинів. За калібрувальним графіком визначали вміст глюкози у ґрунті.

Результати та обговорення. Було встановлено, що протягом двох тижнів у всіх варіаціях дослідів розклалися листові пластини томатів (частини листків візуально не спостерігались у ґрунті) і продовжувалось розкладання черешків та невеликих стебел. На 8 день компостування вміст глюкози в ґрунті був майже однаковий у контролі та ємностях, в які вносили спори *Trichoderma viride* у кількості $1 \cdot 10^5$ КУО/г ґрунту. У ємностях, в які вносили спори у кількості $2 \cdot 10^5$ КУО/г ґрунту, вміст глюкози був найнижчим. На 12 день вміст глюкози в контролі та ємностях, в які вносили спори у кількості $2 \cdot 10^5$ КУО/г ґрунту, був майже однаковим, меншим був вміст глюкози в ємностях, в які вносили спори у кількості $1 \cdot 10^5$ КУО/г ґрунту, та найбільшим – у ємностях, в які додавали 0,003 г аміачної селітри та спори у кількості $1 \cdot 10^5$ КУО/г ґрунту. На 15 день, коли вже були розкладені листові пластини томатів, спостерігали найменший вміст глюкози у контролі, більший – у ємностях, в які вносили спори у кількості $1 \cdot 10^5$ КУО/г ґрунту, ще більший – у ємностях з аміачною селітрою і спорами у кількості $1 \cdot 10^5$ КУО/г ґрунту та найбільший – у ємностях, в які вносили спори у кількості $2 \cdot 10^5$ КУО/г ґрунту. На 19 день компостування вміст глюкози виявився найнижчим у контролі, більшим – у ємностях, в які вносили спори у кількості $2 \cdot 10^5$ КУО/г ґрунту, ще більшим – у ємностях, в які вносили спори у кількості $1 \cdot 10^5$ КУО/г ґрунту та аміачною селітрою і найбільшим у ємностях, в які вносили тільки спори *Trichoderma viride* у кількості $1 \cdot 10^5$ КУО/г ґрунту (рис. 1).

Отримані результати свідчать про те, що гриби *Trichoderma viride* пришвидшують процес компостування рослинних решток томатів. При чому активніше відбувалося компостування у досліді з кількістю спор *Trichoderma viride* $2 \cdot 10^5$ КУО/г ґрунту.

Внесення аміачної селітри, як додаткового джерела нітрогену, підвищувало вміст глюкози в ґрунті протягом першого тижня після внесення. Відсутність позитивного впливу аміачної селітри на процес компостування в подальший час (після першого тижня) може свідчити або про асиміляцію практично основної частки внесеної селітри ґрунтовими організмами, або це може бути пов'язано зі зниженням вмісту решток томатів в ґрунті, що загалом і призвело до зниження продукування глюкози за участі комплексу целюлолітичних ферментів. Тим самим можна пояснити і зниження вмісту глюкози на 19 добу компостування для дослідів з кількістю спор *Trichoderma viride* $2 \cdot 10^5$ КУО/г ґрунту.

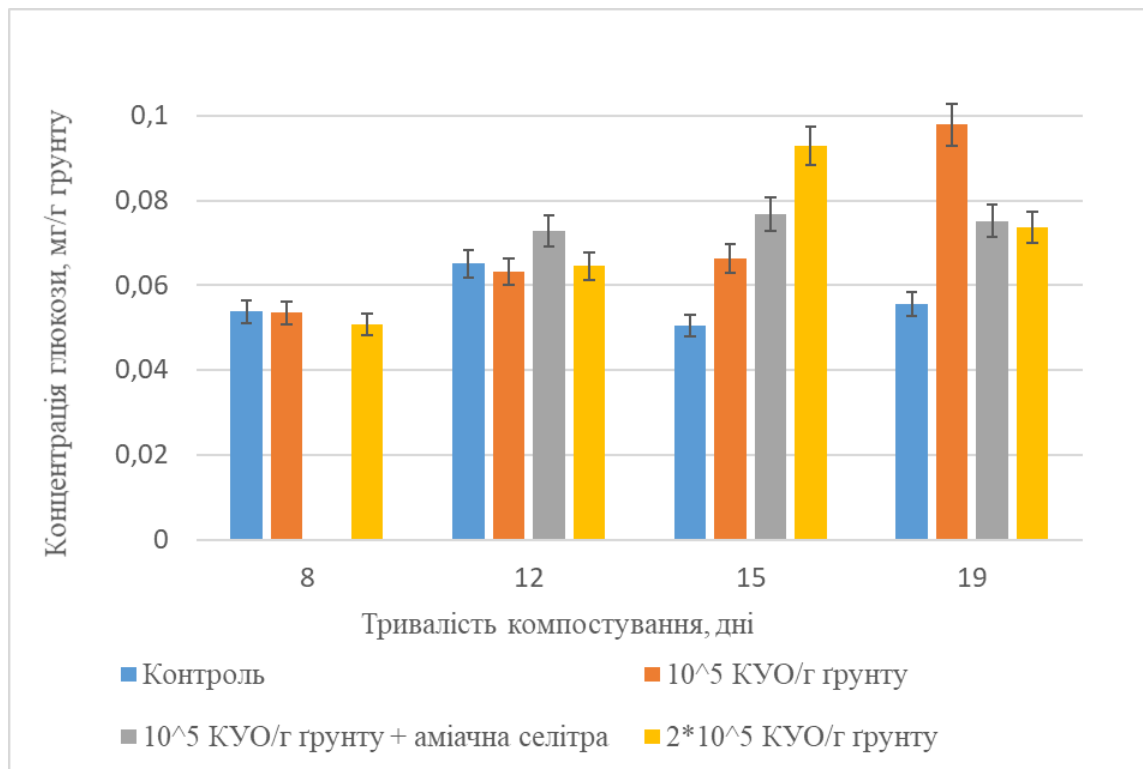


Рис. 1. Зміна концентрації глюкози в ґрунті під час компостування

Враховуючи антагоністичну активність грибів роду *Trichoderma* проти широкого кола патогенів овочевих культур в подальшому планується провести тестування ґрунту після компостування на ефективність елімінації найпоширеніших патогенів томатів.

Висновки. За результатами проведених досліджень було встановлено, що в процесі компостування вміст глюкози у контрольних пробах був нижчим порівняно із вмістом її у пробах з додаванням грибів *Trichoderma viride*, що опосередковано свідчить про вищу ефективність розкладання решток томатів під дією целюлолітичних ферментів *Trichoderma viride*. Базуючись на отриманих даних в подальшому варто дослідити вплив додавання джерел нітрогену на процес компостування. Отримані дані можуть стати основою для подальших досліджень процесу компостування решток овочевих культур під дією препаратів на основі грибів роду *Trichoderma* та оцінки ефективності антагоністичних властивостей *Trichoderma* проти поширених хвороботворних агентів овочевих культур.

Список використаної літератури:

1. Assessing the potential of a *Trichoderma*-based compost activator to hasten the decomposition of incorporated rice straw / N. D. Organo та ін. *Scientific Reports*. 2022. Т. 12, № 1. URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-03828-1>
2. The significance of cellulolytic enzymes produced by *Trichoderma* in opportunistic lifestyle of this fungus/ Strakowska J., Błaszczuk L., Chełkowski J. *Journal of Basic Microbiology*. 2014. Т. 54, S1. С. S2–S13. URL: <https://doi.org/10.1002/jobm.201300821>
3. *Trichoderma* and its role in biological control of plant fungal and nematode disease / X. Yao та ін. *Frontiers in Microbiology*. 2023. Т. 14. URL: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1160551>
4. ДСТУ 5059:2008. Вироби кондитерські. Методи визначання цукрів. На заміну ГОСТ 5903-89 ; чинний від 2010-01-01. Вид. офіц. Київ : Держспоживстандарт України, 2010. 26 с.