

DOI: 10.12731/2658-6649-2024-16-2-831

УДК 579.6



Научная статья

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ВЫДЕЛЕННЫХ В ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ ГРИБОВ РОДА *TRICHODERMA* ПРОТИВ ФИТОПАТОГЕНОВ

В.Е. Кузнецова, Е.А. Матвеева, Л.А. Беловежец

Обоснование. Во всем мире потери сельскохозяйственной продукции связаны с болезнями растений, чаще всего вызываемыми микроскопическими грибами. Одним из наиболее эффективных способов борьбы с ними является применение различных химических фунгицидов. Но избыточная обработка подобными препаратами способна привести к негативным последствиям. Для решения этой проблемы исследуются альтернативы химической борьбе с помощью использования микробов-антагонистов. Особый интерес представляют грибы рода *Trichoderma*, которые можно использовать как биопрепарат, обладающий потенциалом для защиты от ряда заболеваний у растений.

Цель. Изучение антагонистических взаимодействий двух микромицетов рода *Trichoderma*, выделенных со спилов древесины в Восточной Сибири, и фитопатогенных грибов.

Материалы и методы. Таксономическую принадлежность, выделенных микромицетов, определяли по макро- и микроморфологическим признакам с использованием светового микроскопа Primo Star (Zeiss, Германия). Молекулярно-генетический анализ проводился на базе Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов на основе анализа последовательности рибосомальных генов. Антагонистическую активность *Trichoderma* тестировали *in vitro* методом встречных культур, в 5 повторностях.

Результаты. По результатам морфологического и молекулярно-генетического анализа выделенные штаммы были отнесены к видам *Trichoderma atroviride* и *Trichoderma harzianum*. Показано, что выделенные штаммы *Trichoderma* эффективно подавляют развитие исследуемых патогенных грибов (до 50-80%).

Заключение. Таким образом, представленные в работе данные позволяют сделать вывод о возможности использования *Trichoderma atroviride* и

Trichoderma harzianum в дальнейшем изучении средств биоконтроля болезней растений.

Ключевые слова: выделение микроорганизмов; идентификация микроорганизмов; микроорганизмы-антагонисты; *Trichoderma*; фитопатогены; биоконтроль

Для цитирования. Кузнецова В.Е., Матвеева Е.А., Беловежец Л.А. Перспективы использования выделенных в Восточной Сибири грибов рода *Trichoderma* против фитопатогенов // *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*. 2024. Т. 16, №2. С. 213-238. DOI: 10.12731/2658-6649-2024-16-2-831

Original article

THE PROSPECTS OF EASTERN SIBERIA *TRICHODERMA* FUNGI FOR PHYTOPATHOGEN CONTROL

V.E. Kuznetsova, E.A. Matveeva, L.A. Belovezhets

Background. Throughout the world, the losses of agricultural products are associated with plant diseases, most often caused by microscopic fungi. Among the most effective methods to control these fungi is the use of various chemicals fungicides. However, the overutilization of such fungicides can induce negative implications. To address this challenge, alternatives methods of control using antagonist microbes are being developed. Of particular interest are fungi of the *Trichoderma* genus, which can be employed as biopreparations to protect crops against a number of diseases.

Purpose. The study of the antagonistic interactions of two micromycetes of the *Trichoderma* genus, isolated from wood cuts in Eastern Siberia, with phytopathogenic fungi.

Materials and methods. The taxonomic affiliation of the isolated fungi was determined by macro- and micromorphological features, using a Primo Star light microscope (Zeiss, Germany). Molecular genetic analysis was carried out on the basis of the All-Russian Collection of Industrial Microorganisms (Moscow) using the sequence of ribosomal genes (26-srRNA). The antagonistic activity of *Trichoderma* against phytopathogens was tested in vitro by the method of counter cultures in 5 replicates.

Results. According to morphological and molecular genetic characteristics, the isolated strains were identified to the species *Trichoderma atroviride* and *Trichoderma harzianum*. It was shown that the isolated *Trichoderma* strains efficiently inhibit the development of the pathogenic fungi under study (by 50-80%).

Conclusion. *The results obtained suggest that Trichoderma atroviride and Trichoderma harzianum can be further employed in the biocontrol of plant diseases.*

Keywords: *isolation of microorganisms; identification of microorganisms; antagonist microorganisms; Trichoderma; phytopathogens; biocontrol*

For citation. *Kuznetsova V.E., Matveeva E.A., Belovezhets L.A. The Prospects of Eastern Siberia Trichoderma Fungi for Phytopathogen Control. Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture, 2024, vol. 16, no. 2, pp. 213-238. DOI: 10.12731/2658-6649-2024-16-2-831*

Введение

Во всем мире крупномасштабные потери сельскохозяйственной продукции, необходимой для удовлетворения огромного спроса растущего населения, связаны с болезнями растений. Около половины возбудителей всех повреждений приходится на долю микроскопических грибов. Одним из наиболее эффективных способов борьбы с ними является применение различных химических веществ, оказывающих антисептическое действие (фунгицидов) [19, 20]. Но избыточная обработка подобными препаратами способна привести к негативным последствиям, таким как накопление в почве соединений, токсичных для микрофлоры, растений и животных, загрязнение окружающей среды, возрастание резистентности возбудителей [18, 30, 35]. Для решения этой проблемы исследуются альтернативы химической борьбе с помощью использования микробов-антагонистов [14]. Особый интерес представляют грибы рода *Trichoderma*, которые можно использовать как биопрепарат, обладающий потенциалом для защиты от ряда заболеваний у однодольных и двудольных сельскохозяйственных культур [17, 29].

Trichoderma – распространенный сапрофитный мицелиальный гриб, обитающий в почве [21]. Действуя как симбионты растений, специфические штаммы *Trichoderma* получили широкое развитие в качестве агентов биологической борьбы с различными болезнями растений благодаря их способности успешно противодействовать фитопатогенным грибам или бактериям [10, 13, 33]. Это достигается за счет продукции различных антибиотиков, выработки гидролитических ферментов, способных разрушать клеточные стенки и споры патогенных грибов [22]. Кроме того, при колонизации корней, *Trichoderma* способна смягчать пагубные последствия абиотических стрессов, таких как засоление и засуха. Это происходит за счет повышения глобальной устойчивости растений, поглощения и использования питательных веществ, роста и развития корней, а также урожайности сельскохозяйственных культур [15].

Trichoderma может использоваться в качестве биопрепарата на разных стадиях роста растений, начиная с обработки семян перед посевом. Обработка семян способствует улучшению их всхожести и прорастанию, а также защищает растения от возможных заболеваний [27]. В фазу роста растений позволяет уменьшить инфекционную нагрузку, повысить иммунитет растений и улучшить качество урожая. Однако использование таких препаратов имеет определенные особенности, связанные с особенностями разных штаммов в зависимости от места их выделения. Кроме того, внесение в почву высокоактивных микроорганизмов из другой почвенно-климатической зоны может неблагоприятно сказаться на микробном пейзаже почвы, что приведет к негативным последствиям для и так угнетенной почвы [28]. Следовательно, необходим поиск аборигенных штаммов, обладающих высокой активностью. По такому пути идет большое количество исследователей в разных регионах мира [1, 8, 12, 31]. Однако работ, посвященных исследованию *Trichoderma*, выделенных в сибирском регионе, крайне мало [6].

Поэтому **целью исследования** было изучение антагонистических взаимодействий двух микромицетов рода *Trichoderma*, выделенных со спилов древесины в Восточной Сибири, и фитопатогенных грибов. Мы предполагаем, что данные штаммы будут лучше адаптированы к выживанию в условиях Сибири, характеризующихся резкими колебаниями температуры и относительно невысокой влажностью воздуха.

Материалы и методы исследования

Объектами служили культуры грибов, относящихся к фитопатогенам *Fusarium (orthoceras) oxysporum* F-845, *Alternaria botrytis* F-737, *Stemphylium botryosum* F-3044, *Phytophthora drechsleri* F-3149 (предоставлены ВКМ, г. Пущино [2]), *Trichoderma harzianum* и *Trichoderma atroviride*, выделенные нами из зараженной древесины в п. Новая Игирма Иркутской области (Игирма 1) и п. Таежный Красноярского края (Таежный 1). Культуры задепонированы в ВКПМ (протоколы в качестве доп. Материала). Для выделения и идентификации культуры выращивались на Wort Agar при 27°C в течение недели.

Определение таксономической принадлежности выделенных грибов

Колонии исследуемых грибов выращивались на стандартной среде (Wort Agar, HiMedia). Таксономическую принадлежность выделенных гри-

бов Игирма 1, Таежный 1 определяли по макро- и микроморфологическим признакам. Микроскопию проводили при увеличении $\times 40$ с использованием светового микроскопа Primo Star (Zeiss, Германия) на чашках Петри с трехсуточной культурой гриба, анализируя воздушный мицелий и конидии. Субстратный мицелий не отслеживали. Молекулярно-генетический анализ проводился на базе Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (г. Москва) на основе анализа последовательности рибосомальных генов (26-sRNA) [5].

Для идентификации штаммов были выбраны консервативные праймеры для амплификации домена D1/D2 гена 26S р РНК (рибосомальная рибонуклеиновая кислота): NL-1 GCATATCAATAAGCGGAGGAAAG и NL-4 GGTCCGTGTTTCAAGACGG. Реакция ПЦР проводилась в 3 этапа при разной температуре. Секвенирование проводилось на автоматическом секвенаторе AE3000.

Для анализа сиквенсов использовалась специализированная компьютерная программа BLAST [26]. Были определены последовательности, достаточные для отнесения штамма к определенной таксономической группе микроорганизмов. Условия электрофореза ПЦР исследуемых образцов: 1,0% агарозный гель, электрофорез при напряженности электрического поля 5 В/см.

Для уточняющей идентификации штамма дополнительно был амплифицирован и секвенирован фактор элонгации 1. Консервативные праймеры для наработки последовательности гена, кодирующего область TEF-1: EF1-983F GCYCCYGGHCAYCGTGAYTTYAT и EF1-1567R ACHGTRCCRATACCACCRATCTT, и гена, кодирующего область TEF-1: EF1-728F CATCGAGAAGTTCGAGAAGG и EF1-986R TACTTGAAGGAACCCTTACC. Режимы реакции ПЦР указаны выше.

Антагонистическая активность *Trichoderma harzianum* и *Trichoderma atroviride* против фитопатогенов

Антагонистическую активность *Trichoderma* против фитопатогенов тестировали *in vitro* методом встречных культур, на картофельно-глюкозном агаре (200 г/л картофеля, 20 г/л глюкозы, 20 г/л агара) в 5 повторностях. Для этого на чашку Петри, равноудаленно от центра и края чашки, с помощью микробиологической иглы помещали одинаковые кусочки фитопатогенного гриба с одной стороны и его антагониста с другой. Контролем служила чистая культура гриба. Все варианты инкубировались в чашках Петри в термостате при 27 °С в течение 7 дней. По окончании экспери-

мента производили фотофиксацию результатов и измерение радиального роста антагонистов и фитопатогенов.

Для оценки эффективности антагонистов высчитывалось процентное ингибирование радиального роста (PIRG) по следующей формуле [23]:

$$PIRG=(R_1 - R_2)/R_1 \times 100,$$

где R_1 - радиальный рост фитопатогена в контроле (см), R_2 - радиальный рост фитопатогена в двойной культуре (см).

Статистический анализ проводили с использование пакета R-studio. Для оценки значимости различий использовали непараметрический критерий Манна-Уитни, при уровне значимости $p \leq 0,05$.

Результаты исследования

Определение таксономической принадлежности выделенных грибов

Первым этапом исследования было определение макро- и микроморфологических признаков выделенных грибов, при помощи микроскопии (таблица 1, рисунки 1, 2).

Таблица 1.

Морфологические признаки грибов синевы

Признак	Макроморфологические признаки	
	Игирма 1	Таежный 1
Территория выделения		
Строение	Ватообразное или паутинистое, клочковатое	Паутинистое, клочковатое
Поверхность	Сухая, мягкая, хрупкая, шероховатая	Сухая, мягкая, хрупкая, шероховатая
Окраска наружной (верхней) поверхности колонии	Темно-зеленая с бело-желтыми пятнами	Темно-зеленая
Окраска обратной (нижней) стороны колонии (реверзума)	Белая	Темно-зеленая
Форма	Круглая с фестончатым краем	Круглая с фестончатым неровным краем
Характер края (цвет, ширина и контур)	Белый, 2-5 мм, волнистый или фестончатый	Белый, 1-4 мм, фестончатый
Строение центральной части колонии	Плоская	Плоская
Наличие экссудата	Нет	Нет
Мицелий	Стелющийся по поверхности	Умеренно воздушный
Окраска воздушного мицелия:	Зеленая	Темно-зеленая

Признак	Микроморфологические признаки	
Мицелий	обильный, септированный, сильноразветвленный, гифы гладкие, споры обильно	скудный, септированный, слабоветвящийся, гифы гладкие
Конидиеносцы	неразветвленные, развиты на подушечках, с парными ответвлениями	разветвленные, веточки в основном в мутовках по три, реже парные или одиночные, иногда извилистые
Конидии	бело-зеленые, часто яйцевидные или близки к шаровидным	желтовато-зеленые, шаровидные или эллипсоидные

По совокупности макроморфологических признаков (темно-зеленый вид спороношения, бесцветный реверс колонии, отсутствие диффундирующего в среду пигмента) и микроморфологических признаков (гладкие извилистые conidiophores, фиалиды удлиненные ампуловидные, иногда слегка вздутые в середине, иногда изогнутые, конидии округлые, гладкие, 3-4 мкм в диаметре), гриб Игирма 1 отнесен к роду *Trichoderma* (рис. 1).

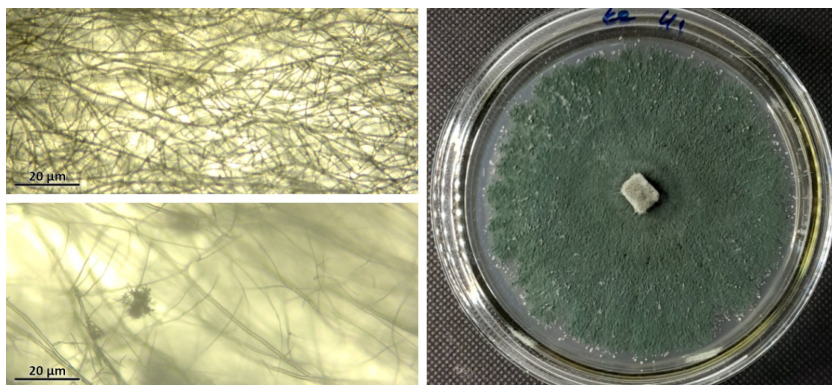


Рис. 1. Микрофотографии и внешний вид колоний гриба, выделенного в п. Н. Игирма 1 (*Trichoderma atroviride*)

Первичный скрининг по базе данных GenBank показал, что исследуемый штамм принадлежит к следующей систематической группе: *Eukaryota*; *Fungi*; *Dikarya*; *Ascomycota*; *Pezizomycotina*; *Sordariomycetes*; *Hypocreomycetidae*; *Hypocreales*; *Hypocreaceae*; *Trichoderma*.

При секвенировании участка ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота), кодирующего домен D1/D2 гена 26S рPHK, получена следующая последовательность:

CCCCMSMSSCSGAMCRATSSMMSKCRTKYGTAGTGAAGCGGCA
ACAGCTCAAATTTGAAATCTGGCCCCTAGGGTCCGAGTTGTAATTTG
TAGAGGATGCTTTTGGTGAGGTGCCGCCGAGTTCCTGGAACGGG
ACGCCGAGAGGGTGAGAGCCCCGTCTGGCTGGCCACCGAGCCTCT
GTAAGCTCCTTCGACGAGTCGAGTAGTTTGGGAATGCTGCTCAAA
ATGGGAGGTATATGTCTTCTAAAGCTAAATATTGGCCAGAGACCGAT
AGCGCACAАKTAGAGTGATCGAAAGATGAAAAGCACCTTGAAAAG
AGGGTTAAACAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGRAAGCGCTTGTGAC

Некоторые штаммы, имеющие максимальную степень гомологии с изучаемым штаммом, и уровень сходства полученной последовательности представлены в таблице 2:

Таблица 2.

Штаммы с максимальной гомологией с Игирма 1

Description	Per. Ident	Accession
<i>Trichoderma caribbaeum</i> var. <i>aequatoriale</i> CBS 119055 28S rRNA gene, partial sequence; from TYPE material	99.40%	NG_069883.1
<i>Trichoderma harzianum</i> isolate NORIE1 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	99.40%	MK913350.1
<i>Trichoderma atroviride</i> strain LMZ-JA5 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	99.40%	MG309711.1
<i>Trichoderma atroviride</i> strain ATCC 20476 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	99.40%	JQ745264.1
<i>Hypocrea atroviridis</i> strain NBRC 8436 28S ribosomal RNA (LSU) gene, partial sequence	99.40%	JN941450.1
<i>Trichoderma viride</i> gene for 28S ribosomal RNA, partial sequence	99.40%	AB517927.1
<i>Trichoderma koningii</i> partial 28S rRNA gene, strain MT 3	99.40%	AJ876773.1
<i>Trichoderma atroviride</i> 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	99.40%	AF127152.1

Анализ филогенетического родства, построенный с использованием штаммов близкородственных микроорганизмов, показал, что наиболее близкими к исследуемому штамму являются несколько видов рода *Trichoderma*.

При секвенировании участка ДНК, кодирующего область TEF-1 исследуемого штамма, получена следующая последовательность:

```
CMCYTRARTSRRRRARRGGGAAAAAMMGAARGGGGCTTGTCT
GTGGGACGCTTGGGGGGCTCAATGGCGTCAATGGCCTCGAGAAGG
GTCTTGCCGGTGGACTTGCCAGCCTTGGTCTCCTTCTCCCAGCCCT
TGTACCAGGGGCAGTTGGTGGAGGCAGCCAACATGTTGTCGCCGT
TGAAGCCGGAGATGGGGACGAAGGCAACGGTCTTGGGGTTGAAG
CCGACCTTCTTGATGAAGTTGGAGGTCTCCTTGATGATCTCAGGGT
AACGAGCCTCCGGCCAGTTGGCAGTGTCCATCTTGTTGATGGCAC
GATGAGCTGGTTGACACCCAGGGGGAGGCAAGCAAACGGGCTCC
CGGTCTGGCCATCTTGAAAAACCACCTCCRAMCCCCMRTACCG
GMRSGAAAACMGATASSGMATCRCTGGGAATWCCA KGGATCTGTT
TTTATAAATCCSGGWCCGGGGAAA
```

При сравнении полученной последовательности с известными последовательностями гена TEF-1 наибольшей гомологией обладает ген из *Trichoderma atroviride*.

Культура Таежный 1 по макроморфологическим (темно-зеленый вид спороношения, темно-зеленый реверс колонии, форма круглая с фестончатым неровным краем) и микроморфологическим признакам (разветвленные conidiophores, веточки в основном в мутовках по три, иногда извилистые), отнесена к роду *Trichoderma* (рис. 2).

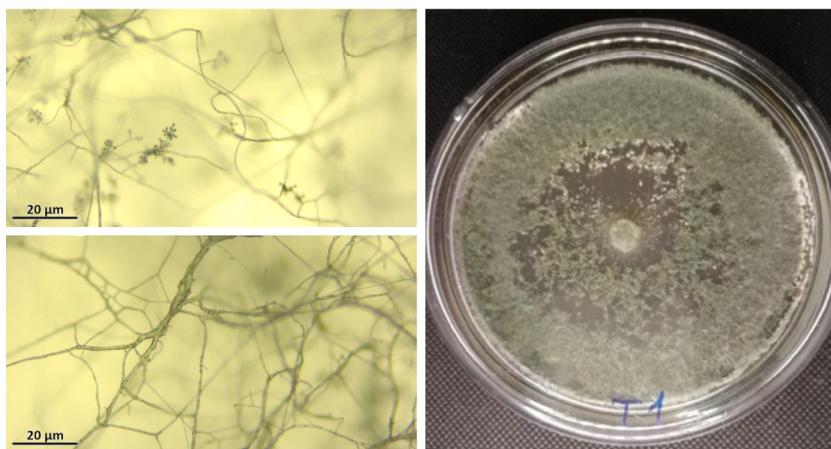


Рис. 2. Микрофотографии и внешний вид колоний гриба, выделенного в п. Таежный 1 (*Trichoderma harzianum*)

Первичный скрининг по базе данных GenBank показал, что исследуемый штамм принадлежит к следующей систематической группе:

Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Sordariomycetes; Hypocreomycetidae; Hypocreales; Hypocreaceae; Trichoderma.

При секвенировании участка ДНК, кодирующего домен D1/D2 гена 26S рРНК, получена следующая последовательность: CCCAGTAACGGCGAG TGAAGCGGCAACAGCTCAAATTTGAAATCTGGTCCCTAGGGCCCCGA GTTGTAATTTGTAGAGGATGCTTTTTGGTGAGGTGCCGCCGAGTTCC CTGGAACGGGACGCCACAGAGGGTGAGAGCCCCGTCTGGCTGGCC GCCGAGCCTCTGTAAAGCTCCTTCGACGAGTCGAGTAGTTTGGGAA TGCTGCTCAAAATGGGAGGTATATGTCTTCTAAAGCTAAATATTGGC CAGAGACCGATAGCGCACAAGTAGAGTGATCGAAAGATGAAAAGC ACCTTGAAAAGAGGGTTAAATAGTACGTGAAATTGTTGAAAAGGGAA GCGCTTGTGACCAGACTTGGGCGCGGGCAGTATCCGGGGTTCTCTC CGGTGCACTTCGCCGCGTCTAGGCCAGCATCAGTTCGTCGCGGGGG AAAAAGGCTTCGGGAACGTGGCTCCTCCGGGAGTGTTATAGCCCCGT TGCATAATACCCTGCGGTGGACTGAGGACCGCGCATCTGCAAGGATG CTGGCGTAATGGTCACCAGCGACCC.

Некоторые штаммы, имеющие максимальную степень гомологии с изучаемым штаммом, и уровень сходства полученной последовательности представлены в таблице 3.

Таблица 3.

Штаммы с максимальной гомологией с Таежный 1

Description	Per. Ident	Accession
<i>Trichoderma lixii</i> CBS 110080 28S rRNA gene, partial sequence; from TYPE material	100.00%	NG_069091.1
<i>Trichoderma guizhouense</i> culture MFLUCC:17-1512 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	100.00%	MT214480.1
<i>Trichoderma harzianum</i> strain CBS 389.36 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	100.00%	MH867339.1
<i>Trichoderma harzianum</i> strain MF13025 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	100.00%	KC809921.1
<i>Trichoderma simmonsii</i> strain GH-Sj1 chromosome V	100.00%	CP075868.1
<i>Hypocrea nigricans</i> strain NBRC 30611 28S ribosomal RNA (LSU) gene, partial sequence	100.00%	JN941464.1
<i>Hypocrea lixii</i> strain T7 28S large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	100.00%	FJ890423.1

Анализ филогенетического родства, построенный с использованием штаммов близкородственных микроорганизмов, показал, что наиболее близким к исследуемому штамму являются несколько видов.

При секвенировании участка ДНК, кодирующего область TEF-1 исследуемого штамма, получена следующая последовательность: TTTCGTGTCGACAATTTTTTCATCACCCCGCTTTCATACCCCTCCTTTGCAGCGACGCAATTTTTTTGCTGTCGTTTGGTTTTTGTAGTGGGGTTCTCTGTGCAACCCCACTAGCTCACTGCTTTTTTCCTGCTTCACTCTCACTTCCTCATCATATCAACACGCTCTGTGTCTTTGGTCATTCARCGATGCTAACCACTTTTCCATCAATAGGAAGCCGCCRAACTCGGTAAGGGTTCCTTCAAGTAA.

При сравнении полученной последовательности с известными последовательностями гена TEF-1 наибольшей гомологией обладает ген из *Trichoderma harzianum*. Таким образом, молекулярно-генетическая идентификация показала, что наиболее близким к исследуемому штамму является вид *Trichoderma harzianum*.

Антагонистическая активность *Trichoderma harzianum* и *Trichoderma atroviride* против фитопатогенов

Для максимально достоверной оценки антагонистической активности было проведено определение скорости роста каждой культуры (рис.3). Максимальной скоростью роста обладает *Phytophthora drechsleri* (в экспоненциальной фазе роста 37.23 мм/сут), уже на 4 сутки она заполняет всю поверхность питательной среды. У *Trichoderma harzianum* и *Trichoderma atroviride* скорость роста близка и составляет 17.38 мм/сут и 19.85 мм/сут соответственно (табл. 4). Самые медленно растущие культуры - *Fusarium (orthoceras) oxysporum* - 10,56 мм/сут, *Alternaria botrytis* - 8,87 мм/сут и *Stemphylium botryosum* - 10,22 мм/сут, к концу эксперимента площадь поверхности питательной среды, занятой данными культурами, не превышает половины.

Таблица 4.

Средний радиальный рост

Микро-организм	Сутки культивирования, см						
	1	2	3	4	5	6	7
<i>Fusarium (orthoceras) oxysporum</i>	0,53±0,05	1,16±0,10	1,6±0,13	2,1±0,10	2,5±0,01	3,2±0,20	3,48±0,15
<i>Alternaria botrytis</i>	0,57±0,25	0,87±0,15	1,4±0,12	1,9±0,18	2,16±0,20	2,58±0,10	2,9±0,20
<i>Stemphylium botryosum</i>	0,74±0,10	1,24±0,10	1,6±0,10	2±0,13	2,4±0,15	2,94±0,20	3,1±0,20

<i>Phytophthora drechsleri</i>	2,1±0,25	4,03±0,35	4,41±0,07	4,5±0,01	4,5±0,01	4,5±0,01	4,5±0,01
<i>Trichoderma atroviride</i>	0,96±0,13	1,84±0,20	2,3±0,33	3,8±0,41	4,2±0,14	4,42±0,10	4,46±0,05
<i>Trichoderma harzianum</i>	0,57±0,13	1,91±0,68	3,12±0,47	4,3±0,08	4,5±0,01	4,5±0,01	4,5±0,01

$P < 0,05$

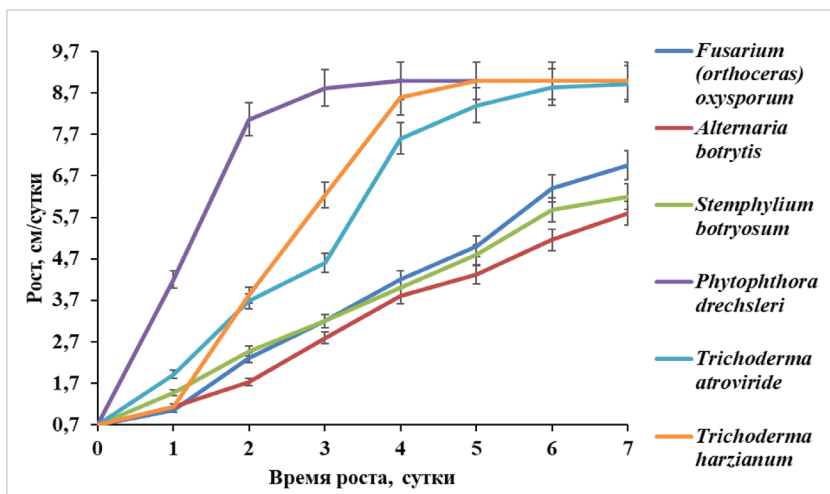


Рис. 3. Кривая скорости роста микроорганизмов на плотной питательной среде. ($M \pm \sigma$, достоверные различия между показателем и контролем, при уровне значимости $p < 0,05$)

Следующим этапом работы было определение антагонистической активности культур путем вычисления процента ингибирования радиального роста фитопатогенов (рис.4). Поскольку это данные пяти независимых повторов, на рисунках 3 и 4 показано стандартное отклонение. В этом случае мы показываем, что различия статистически значимы. Обе исследованные культуры эффективно (более чем на 50%) подавляют рост всех тестовых патогенов. Максимальное подавление характерно для *T. (Trichoderma) harzianum* против *Fusarium oxysporum* и *Alternaria botrytis* (более 80 %), подавление *Stemphylium botryosum* и *Phytophthora drechsleri* хуже, но превышает 50 %. *T. atroviride* более эффективна по отношению к *Alternaria botrytis*, *Stemphylium botryosum* и *Phytophthora drechsleri*. Интересно отметить, что колонии фитопатогенов развиваются одинаково

(рис. 5), при этом ингибирование *Phytophthora drechsleri* в первую неделю культивирования (обоими антагонистами) значительно ниже, что связано с высокой скоростью роста данного фитопатогена. Однако, через 14 суток инкубации, поверхность фитопатогена оказывается почти полностью покрыта мицелием *Trichoderma* (рис. 6).

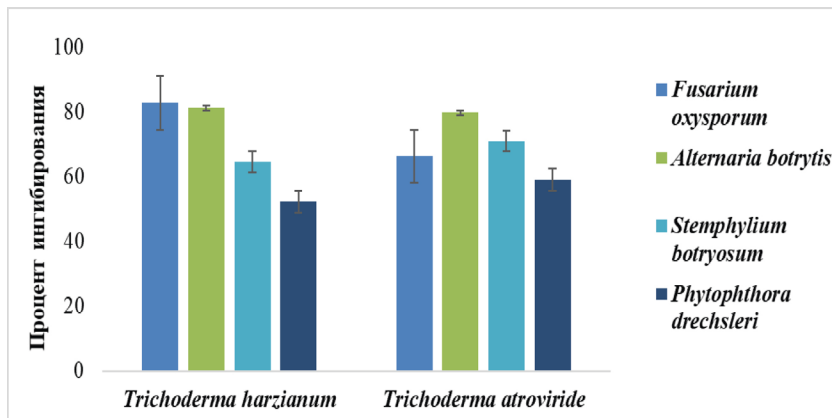


Рис. 4. Ингибирование радиального роста фитопатогена через 7 дней культивирования, %. ($M \pm \sigma$ достоверные различия между показателем и контролем, при уровне значимости $p < 0,05$)

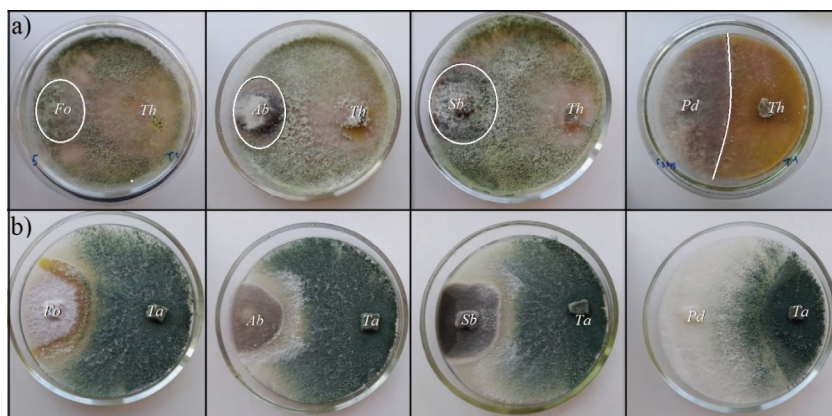


Рис. 5. Антагонизм *in vitro* ряд а) справа (*Th*) *Trichoderma harzianum*, ряд б) справа (*Ta*) *Trichoderma atroviride*, фитопатогены слева (*Fo*) *Fusarium (orthoceras) oxysporum*, (*Ab*) *Alternaria botrytis*, (*Sb*) *Stemphylium botryosum*, (*Pd*) *Phytophthora drechsleri*.

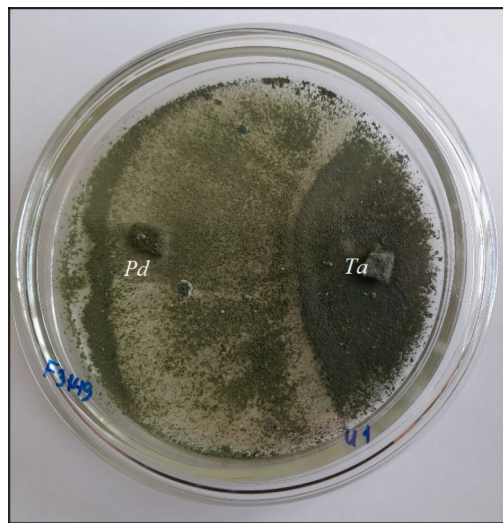


Рис. 6. Антагонизм *in vitro* между (*Pd*) *Phytophthora drechsleri* и (*Ta*) *Trichoderma atroviride* при 14 суточной инкубации.

Обсуждение

Использование биологических средств контроля фитопатогенов является одним из самых перспективных направлений современного сельского хозяйства.

Несмотря на большой объем исследований, посвященных фитопатогенным грибам, сведения об их видовом составе, распространении и эколого-биологических особенностях в Сибири малочисленны, а причиняемый ими ущерб чрезвычайно велик. Кроме того, биоконтроль фитопатогенных грибов в условиях Сибири имеет свои особенности, обусловленные их онтогенетическими отличиями, сформировавшимися под влиянием биотических и абиотических факторов, что ставит под сомнение эффективность мер борьбы, разработанных и успешно реализуемых в других регионах [4].

Примером может служить то, что биоразнообразие и представленность грибов рода *Fusarium* в наземных экосистемах Средней Сибири претерпевает изменения в условиях конкретного биоценоза в зависимости от почвенно-климатических условий и наличия растения-хозяина [4]. Эффективным способом биологической борьбы с болезнями растений является использование аборигенных штаммов-антагонистов, адаптированных к почвенно-климатическим особенностям региона.

Показано, что изоляты *Trichoderma*, выделенные в различных регионах, могут демонстрировать разные уровни эффективности [11, 16, 32], которые в большой степени зависят от условий внешней среды, в том числе и температуры [7]. Следует отметить, что чаще всего исследования *Trichoderma* в нашей стране проводятся на юге России [3]. Однако в сибирских районах, изучаемые на юге штаммы, могут не проявлять эффективность из-за влияния абиотических факторов и высокой устойчивости патогенов.

Использованные в работе штаммы были выделены в Восточной Сибири. По результатам молекулярно-генетического анализа они отнесены к *Trichoderma harzianum* и *Trichoderma atroviride*. Это одни из самых эффективных видов-антагонистов [13, 36], входящие в состав нескольких коммерческих препаратов [9, 25]. По динамике роста эти виды можно отнести к быстрорастущим, но интересно, что ярко выраженная лаг-фаза характерна только для *Trichoderma harzianum*.

При изучении антагонистической активности мы обнаружили, что *T. harzianum* и *T. atroviride* ингибируют рост всех тестовых патогенов с эффективностью более 50%. Эти результаты согласуются с данными исследователей из Индонезии [29] и США [24]. Следует отметить, что развитие колоний фитопатогенов идет примерно на одном уровне. Интересно, что *T. harzianum* растет поверх колоний патогенов, а для *T. atroviride* характерна полоса чистого агара 3-8 мм, с последующим ростом на колонии патогена. Это, вероятно, связано с продукцией *T. atroviride* соединения с антигрибным действием [23, 34]. В то же время, для *T. harzianum* характерен другой путь взаимодействия с патогеном. Скорее всего это конкуренция за питательные вещества и гиперсинтез гидrolитических ферментов [23]. Подавление роста *Phytophthora drechsleri* обоими антагонистами в первую неделю культивирования существенно ниже. *Phytophthora drechsleri*, как более быстро растущий микробиот, успевает колонизировать около 50% питательной среды до контакта с антагонистом. Однако при более длительной инкубации (14 суток), поверхность фитопатогена почти полностью оказывается покрыта мицелием и спорами *Trichoderma*. Также можно отметить, что в двойных культурах патогены (*Alternaria botrytis*, *Stemphylium botryosum*) не успевают синтезировать пигмент, что может свидетельствовать о замедлении роста культуры патогена и перехода ее в стационарную фазу роста, предположительно это может быть связано с синтезом *Trichoderma* вторичных метаболитов и хитинолитических ферментов [23]. Следовательно, оба выделенных микробиота эффективно

подавляют рост тестовых патогенных грибов, что открывает широкие перспективы для их дальнейшего использования.

Заключение

В ходе данной работы были выделены 2 микромицета со спилов древесины в Восточной Сибири, которые по морфологическим признакам были идентифицированы как *T. atroviride* и *T. harzianum*.

Обе исследуемые *Trichoderma* эффективно (на 52-82%) подавляют как быстрорастущие культуры фитопатогенов, так и медленно растущие. Несмотря на то, что ингибирование *Phytophthora drechsleri* было минимальным из исследуемых фитопатогенов, при более длительном культивировании *Trichoderma* занимает практически 100% питательной среды и фитопатоген оказывается полностью покрыт спорами антагониста. Различия между штаммами *Trichoderma* в подавлении исследуемых патогенов связано с разнообразными стратегиями в подавлении фитопатогенов. Предположительно, *T. atroviride* способна к синтезу антибиотиков, а *T. harzianum* вторичных метаболитов и хитинолитических ферментов.

Представленные в работе данные позволяют сделать вывод о возможности использования в сельском хозяйстве *T. atroviride* и *T. harzianum* в качестве средств биологического контроля как для профилактики болезни, так и на начальном этапе заражения растений в отношении распространённых фитопатогенов.

Заключение комитета по этике. Неприменимо.

Информированное согласие. Неприменимо.

Информация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Информация о спонсорстве. Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФИ № 23-26-10008.

Благодарности. Авторы выражают благодарность национальному биоресурсному центру Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов НИЦ «Курчатовский институт» за помощь в идентификации выделенных микромицетов, а также инженеру лаборатории экологической биотехнологии ИрИХ СО РАН Старченко Инессе Владимировне за вклад в экспериментальную часть на начальном этапе исследования.

Список литературы

1. Астапчук И.Л., Якуба Г.В., Насонов А.И. Скрининг штаммов-антагонистов *Trichoderma* Pers. к возбудителям гнили корней яблони из рода *Fusarium* Link // Садоводство и виноградарство. 2022. № 5. Р. 47-53. <https://doi.org/10.31676/0235-2591-2022-5-47-53>
2. Всероссийская коллекция микроорганизмов. <http://www.vkm.ru/rus>
3. Кондакова О.Э., Гродницкая И.Д. Оценка биологической активности музейных культур микроорганизмов-антагонистов и их использование для предпосевной обработки семян сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) in vitro // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2018. № 42. С. 54–68. <https://doi.org/10.17223/19988591/42/3>
4. Литовка Ю.А. Эколого-биологические особенности и биоконтроль грибов рода *Fusarium*, распространенных в наземных экосистемах Средней Сибири: автореферат диссертации на соискание учёной степени доктора биологических наук. Томск, 2019.
5. Научный центр «Курчатовский институт». Научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов. <https://vkpm.genetika.ru>
6. Садыкова В. С., Бондарь П. Н. Перспективы использования грибов р. *Trichoderma* в защите злаков от корневых гнилей в Сибири // Вестник КрасГАУ. 2010. №2. С. 34-39. <https://doi.org/10.7868/S0555109915030149>
7. Юрченко Е.Г., Астапчук И.Л., Якуба Г.В., Савчук Н.В., Насонов А.И. К изучению антимикотического потенциала грибов рода *Trichoderma* spp. в отношении фитопатогенов *Fusarium* spp. возбудителей болезней яблони и винограда // Сборник трудов конференции ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия». 2020. С. 396-407.
8. Яковлева М.Т., Борисова В.Б. Эффективность местных штаммов клубеньковых бактерий на продуктивность Люцерны // International agricultural journal. 2021. № 5. С. 272-279. <https://doi.org/10.24412/2588-0209-2021-10372>
9. Al-Ani L.K.T. A patent survey of *Trichoderma* spp. (from 2007 to 2017). / Singh H., Keswani C., Singh S. (eds) // Intellectual property issues in microbiology. Springer, Singapore, 2019, pp. 163–192. http://doi.org/10.1007/978-981-13-7466-1_10
10. Arasu M.V., Vijayaraghavan P., Al-Dhabi N.A., Choi K.C., Moovendhan M. Biocontrol of *Trichoderma gamsii* induces soil suppressive and growth-promoting impacts and rot disease-protecting activities // Journal of Basic Microbiology, 2023, vol. 63, № 7, pp. 801-813. <https://doi.org/10.1002/jobm.202300016>

11. Bazghaleh, N.; Prashar, P.; Woo, S.; Vandenberg, A. Effects of Lentil Genotype on the Colonization of Beneficial *Trichoderma* Species and Biocontrol of Aphanomyces Root Rot // *Microorganisms*, 2020, vol. 8, 1290 p. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8091290>
12. Bozdeveci, A., Karaoğlu, Ş.A. Determination of Biocontrol Properties of Two Local *Trichoderma* Isolates // *Biol Bull Russ Acad Sci*, 2023. <https://doi.org/10.1134/S1062359023602057>
13. Guzmán-Guzmán P., Kumar A., de los Santos-Villalobos S., Parra-Cota F.I., Orozco-Mosqueda Md.C., Fadji A.E., Hyder S., Babalola O.O., Santoyo G. *Trichoderma* Species: Our Best Fungal Allies in the Biocontrol of Plant Diseases—A Review // *Plants*, 2023, vol. 12, № 3, 432 p. <https://doi.org/10.3390/plants12030432>
14. Haghi Z., Mostowfizadeh-Ghalamfarsa R., Steinberg C. The efficacy of Iranian *Pythium oligandrum* isolates in biocontrol of soil-borne fungal pathogens of tomato // *Journal of Plant Pathology*, 2023, vol. 105, pp. 185-196. <https://doi.org/10.1007/s42161-022-01245-5>
15. Harman G.E., Doni F., Khadka R.B., Uphoff N. Endophytic strains of *Trichoderma* increase plants' photosynthetic capability // *Journal of Applied Microbiology*, 2019, vol. 130, № 2, pp. 529-546. <https://doi.org/10.1111/jam.14368>
16. Hautsalo J., Vestberg M., Parikka P., Finni S. et al. Biological control of strawberry crown rot is substrate dependent phenomenon // *Journal of Berry Research*, 2016, vol. 6, № 1. pp. 65-79. <https://doi.org/10.3233/JBR-150110>
17. Illescas M., Morán-Diez M.E., Martínez de Alba Á.E., Hermosa R., Monte E. Effect of *Trichoderma asperellum* on wheat plants' biochemical and molecular responses, and yield under different water stress conditions // *International Journal of Molecular Science*, 2022, vol. 23, № 12, 6782 p. <https://doi.org/10.3390/ijms23126782>
18. Jiang F., Peng Ye., Sun Q. Pesticides exposure induced obesity and its associated diseases: recent progress and challenges // *Journal of Future Foods*, 2022, vol. 2, pp. 119-124. doi.org/10.1016/j.jfutfo.2022.03.005
19. Karamchandani B.M., Chakraborty S., Dalvi S.G. Chitosan and its derivatives: Promising biomaterial in averting fungal diseases of sugarcane and other crops // *Journal of Basic Microbiology*, 2022, vol. 62, № 5, pp. 533-554. <https://doi.org/10.1002/jobm.202100613>
20. Kekalo A.Yu., Zargaryan N.Yu., Nemchenko V.V. Effectiveness of fungicidal protection of spring wheat against powdery mildew and tan spot // *Siberian Herald of Agricultural Science*, 2023, vol. 53, № 1, pp. 45-52. <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2023-1-6>

21. Kumar J., Kumar M., Tomar A., Vaishali, Kumar P., Chand P. Morphological and molecular characterization of *Trichoderma spp.* from Rhizosphere Soil and their antagonistic activity against *Fusarium spp.* // International Journal of Plant and Soil Science, 2021, vol. 33, № 19, pp. 100-112. <https://doi.org/10.9734/ijpps/2021/v33i1930605>
22. Lyubenova A., Rusanova M., Nikolova M., Slavov S.B. Plant extracts and *Trichoderma spp.*: possibilities for implementation in agriculture as biopesticides // Biotechnology and Biotechnological Equipment, 2023, vol. 37, № 1, pp. 159-166. <https://doi.org/10.1080/13102818.2023.2166869>
23. Manzar N., Kashyap A.S., Goutam R.S., Rajawat M.V.S., Sharma P.K., Sharma S.K., Singh H.V. *Trichoderma*: Advent of Versatile Biocontrol Agent, Its Secrets and Insights into Mechanism of Biocontrol Potential // Sustainability, 2022, vol. 14, № 19, 12786 p. <https://doi.org/10.3390/su141912786>
24. Martínez-Padrón H.Y., Herrera-Mayorga V., Paredes-Sánchez F. A., Lara-Ramírez E. E., Torres-Castillo J. A., Rodríguez-Herrera R., López-Santillán J. A., Osorio-Hernández E. In vitro evaluation of the antagonistic activity of native strains of *Trichoderma spp.* against *Fusarium spp.* // Journal of Environmental Science and Health, 2023, part B, vol. 58, № 2, pp. 195-202. <https://doi.org/10.1080/03601234.2023.2185014>
25. Meher J., Rajput R.S., Bajpai R., Teli B., Sarma B.K. *Trichoderma*: A globally dominant commercial biofungicide // *Trichoderma: Agricultural Applications and Beyond*, Soil Biology, Springer Nature: Cham, Switzerland, 2020, vol. 61, pp. 195-208. http://doi.org/10.1007/978-3-030-54758-5_9
26. National Library of Medicine. National Center for Biotechnology Information. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>. Accessed 25 April 2023.
27. Pani S., Kumar A., Sharma A. *Trichoderma harzianum*: An Overview // Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences, 2021, vol. 10, № 6, pp 32-39.
28. Pramanick B., Bera A., Saha P., Barman A. Soil Microflora and Their Interaction with Plants Under Changing Climatic Scenarios // Microbial Symbionts and Plant Health: Trends and Applications for Changing Climate, 2023, vol. 1, № 2, pp. 19-40. https://doi.org/10.1007/978-981-99-0030-5_2
29. Putranto W.A., Nugroho R. A., Hardiyanta S.P., Cahyaningrum D.Ch. Are *Trichoderma atroviride* and *Trichoderma harzianum* effective to control *Fusarium* associated with tomato wilt? // Microbiology Indonesia, 2021, vol. 15, № 3, pp. 84-90. <https://doi.org/10.5454/mi.15.3.2>
30. Rola K., Majewska E., Chowanec K. Interaction effect of fungicide and chitosan on non-target lichenized fungi // Chemosphere, 2023, vol. 316, 137772 p. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.137772>

31. Sana B. S., Sumaira H., Dar M. S. et al. Morpho-cultural and molecular characterization of *Trichoderma* species from apple rhizosphere of North-western Himalayan temperate region of India. Preprint (Version 1) available at Research Square, 2023. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2429359/v1>
32. Tucci M., Ruocco M., Masi L. D., Palma M. D., Lorito M. The beneficial effect of *Trichoderma* spp. on tomato is modulated by the plant genotype // *Molecular Plant Pathology*, 2011, vol. 12, № 4, pp. 341–354. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2010.00674.x>
33. Tyskiewicz R., Nowak A., Ozimek E., Jaroszuk-Sciseł J. *Trichoderma*: the current status of its application in agriculture for the biocontrol of fungal phytopathogens and stimulation of plant growth // *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, vol. 23, № 4, 2329 p. <https://doi.org/10.3390/ijms23042329>
34. Viglas J., Olejnikova P. *Trichoderma atroviride*: an isolate from forest environment with secondary metabolites with high antimicrobial potential // *Acta Chimica Slovaca*, 2019, vol. 12, № 1, pp. 46-55. <https://doi.org/10.2478/acs-2019-0008>
35. Xue P., Liu X., Jia H., Yuan H., Liu B., Zhang J., He Z. Environmental behavior of the chiral fungicide epoxiconazole in earthworm-soil system: Enantioselective enrichment, degradation kinetics, chiral metabolite identification, and biotransformation mechanism // *Environment International*, 2022, vol. 167, 107442 p. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107442>
36. Yassin M.T., Mostafa A.A.F., Al-Askar A.A., Sayed S.R.M., Rady A.M. Antagonistic activity of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* strains against some fusarial pathogens causing stalk rot disease of maize, in vitro // *Journal of King Saud University – Science*, 2021, vol. 33, № 3. 101363 p. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2021.101363>

References

1. Astapchuk I.L., Yakuba G.V., Nasonov A.I. Skrining shtammov-antagonistov *Trichoderma* Pers. k vozбудitelyam gnili korney yabloni iz roda *Fusarium* Link [Screening of antagonist strains of *Trichoderma* Pers. to pathogens of apple tree root rot from the genus *Fusarium* Link]. *Sadovodstvo i vinogradarstvo*, 2022, № 5, pp. 47-53. <https://doi.org/10.31676/0235-2591-2022-5-47-53>
2. *Vserossiyskaya kolleksiya mikroorganizmov* [All-Russian Collection of Microorganisms]. <http://www.vkm.ru/rus>
3. Kondakova O.E., Grodnitskaya I.D. Otsenka biologicheskoy aktivnosti muzeynykh kul'tur mikroorganizmov-antagonistov i ikh ispol'zovanie dlya predposevnoy obrabotki semyan sosny obyknovennoy (*Pinus sylvestris* L.) in

- vitro [Assessment of the biological activity of museum cultures of antagonistic microorganisms and their use for pre-sowing treatment of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) seeds in vitro]. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya*, 2018, № 42, pp. 54–68. <https://doi.org/10.17223/19988591/42/3>
4. Litovka Yu.A. *Ekologo-biologicheskie osobennosti i biokontrol' gribov roda Fusarium, rasprostranennykh v nazemnykh ekosistemakh Sredney Sibiri: avtoreferat dissertatsii na soiskanie uchenoy stepeni doktora biologicheskikh nauk* [Ecological and biological features and biocontrol of fungi of the genus *Fusarium*, widespread in terrestrial ecosystems of Central Siberia: abstract of the dissertation for the discovery of the scientific degree of Doctor of Biological Sciences]. Tomsk, 2019.
 5. *Nauchnyy tsentr «Kurchatovskiy institut». Nauchno-issledovatel'skiy institut genetiki i seleksii promyshlennykh mikroorganizmov* [Scientific Center “Kurchatov Institute”. Research Institute for Genetics and Selection of Industrial Microorganisms]. <https://vkpm.genetika.ru>
 6. Sadykova B. C., Bondar' P. N. Perspektivy ispol'zovaniya gribov p. *Trichoderma* v zashchite zlakov ot kornevykh gniley v Sibiri [Prospects for the use of *Trichoderma* fungi to protect grain crops from root rot in Siberia.]. *Vestnik KrasGAU*, 2010, no. 2, pp. 34–39. <https://doi.org/10.7868/S0555109915030149>
 7. Yurchenko E.G., Astapchuk I.L., Yakuba G.V., Savchuk N.V., Nasonov A.I. K izucheniyu antimikoticheskogo potentsiala gribov roda *Trichoderma* spp. v otnoshenii fitopatogenov *Fusarium* spp. vzbuditeley bolezney yabloni i vino-grada [To study the antimycotic potential of fungi of the genus *Trichoderma* spp. against phytopathogens *Fusarium* spp. pathogens of apples and grapes]. *Proceedings of the conference North Caucasus Federal Scientific Center of Horticulture, Viticulture, Winemaking*, 2020, pp. 396–407.
 8. Yakovleva M.T., Borisova V.B. Effektivnost' mestnykh shtammov kluben'kovykh bakteriy na produktivnost' Lyutserny [Efficiency of local strains of nodule bacteria on *Lucerne* productivity]. *International agricultural journal*, 2021, no. 5, pp. 272–279. <https://doi.org/10.24412/2588-0209-2021-10372>
 9. Al-Ani L.K.T. A patent survey of *Trichoderma* spp. (from 2007 to 2017). In: Singh H., Keswani C., Singh S. (eds) *Intellectual property issues in microbiology*. Springer, Singapore, 2019, pp. 163–192. http://doi.org/10.1007/978-981-13-7466-1_10
 10. Arasu M.V., Vijayaraghavan P., Al-Dhabi N.A., Choi K.C., Moovendhan M. Biocontrol of *Trichoderma gamsii* induces soil suppressive and growth-promoting impacts and rot disease-protecting activities. *Journal of Basic Microbiology*, 2023, vol. 63, no. 7, pp. 801–813. <https://doi.org/10.1002/jobm.202300016>

11. Bazghaleh, N.; Prashar, P.; Woo, S.; Vandenberg, A. Effects of Lentil Genotype on the Colonization of Beneficial *Trichoderma* Species and Biocontrol of Aphanomyces Root Rot. *Microorganisms*, 2020, vol. 8, 1290 p. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8091290>
12. Bozdeveci, A., Karaoğlu, Ş.A. Determination of Biocontrol Properties of Two Local *Trichoderma* Isolates. *Biol Bull Russ Acad Sci*, 2023. <https://doi.org/10.1134/S1062359023602057>
13. Guzmán-Guzmán P., Kumar A., de los Santos-Villalobos S., Parra-Cota F.I., Orozco-Mosqueda Md.C., Fadji A.E., Hyder S., Babalola O.O., Santoyo G. *Trichoderma* Species: Our Best Fungal Allies in the Biocontrol of Plant Diseases—A Review. *Plants*, 2023, vol. 12, no. 3, 432 p. <https://doi.org/10.3390/plants12030432>
14. Haghi Z., Mostowfizadeh-Ghalamfarsa R., Steinberg C. The efficacy of Iranian *Pythium oligandrum* isolates in biocontrol of soil-borne fungal pathogens of tomato. *Journal of Plant Pathology*, 2023, vol. 105, pp. 185-196. <https://doi.org/10.1007/s42161-022-01245-5>
15. Harman G.E., Doni F., Khadka R.B., Uphoff N. Endophytic strains of *Trichoderma* increase plants' photosynthetic capability. *Journal of Applied Microbiology*, 2019, vol. 130, no. 2, pp. 529-546. <https://doi.org/10.1111/jam.14368>
16. Hautsalo J., Vestberg M., Parikka P., Finni S. et al. Biological control of strawberry crown rot is substrate dependent phenomenon. *Journal of Berry Research*, 2016, vol. 6, no. 1. pp. 65-79. <https://doi.org/10.3233/JBR-150110>
17. Illescas M., Morán-Diez M.E., Martínez de Alba Á.E., Hermosa R., Monte E. Effect of *Trichoderma asperellum* on wheat plants' biochemical and molecular responses, and yield under different water stress conditions. *International Journal of Molecular Science*, 2022, vol. 23, no. 12, 6782 p. <https://doi.org/10.3390/ijms23126782>
18. Jiang F., Peng Ye., Sun Q. Pesticides exposure induced obesity and its associated diseases: recent progress and challenges. *Journal of Future Foods*, 2022, vol. 2, pp. 119-124. <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2022.03.005>
19. Karamchandani B.M., Chakraborty S., Dalvi S.G. Chitosan and its derivatives: Promising biomaterial in averting fungal diseases of sugarcane and other crops. *Journal of Basic Microbiology*, 2022, vol. 62, no. 5, pp. 533-554. <https://doi.org/10.1002/jobm.202100613>
20. Kekalo A.Yu., Zargaryan N.Yu., Nemchenko V.V. Effectiveness of fungicidal protection of spring wheat against powdery mildew and tan spot. *Siberian Herald of Agricultural Science*, 2023, vol. 53, no. 1, pp. 45-52. <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2023-1-6>

21. Kumar J., Kumar M., Tomar A., Vaishali, Kumar P., Chand P. Morphological and molecular characterization of *Trichoderma spp.* from Rhizosphere Soil and their antagonistic activity against *Fusarium spp.* *International Journal of Plant and Soil Science*, 2021, vol. 33, no. 19, pp. 100-112. <https://doi.org/10.9734/ijpss/2021/v33i1930605>
22. Lyubenova A., Rusanova M., Nikolova M., Slavov S.B. Plant extracts and *Trichoderma spp.*: possibilities for implementation in agriculture as biopesticides. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 2023, vol. 37, no. 1, pp. 159-166. <https://doi.org/10.1080/13102818.2023.2166869>
23. Manzar N., Kashyap A.S., Goutam R.S., Rajawat M.V.S., Sharma P.K., Sharma S.K., Singh H.V. *Trichoderma*: Advent of Versatile Biocontrol Agent, Its Secrets and Insights into Mechanism of Biocontrol Potential. *Sustainability*, 2022, vol. 14, no. 19, 12786 p. <https://doi.org/10.3390/su141912786>
24. Martínez-Padrón H.Y., Herrera-Mayorga V., Paredes-Sánchez F. A., Lara-Ramírez E. E., Torres-Castillo J. A., Rodríguez-Herrera R., López-Santillán J. A., Osorio-Hernández E. In vitro evaluation of the antagonistic activity of native strains of *Trichoderma spp.* against *Fusarium spp.* *Journal of Environmental Science and Health*, 2023, part B, vol. 58, no. 2, pp. 195-202. <https://doi.org/10.1080/03601234.2023.2185014>
25. Meher J., Rajput R.S., Bajpai R., Teli B., Sarma B.K. *Trichoderma*: A globally dominant commercial biofungicide. *Trichoderma: Agricultural Applications and Beyond, Soil Biology, Springer Nature: Cham, Switzerland*, 2020, vol. 61, pp. 195-208. http://doi.org/10.1007/978-3-030-54758-5_9
26. *National Library of Medicine. National Center for Biotechnology Information.* <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>
27. Pani S., Kumar A., Sharma A. *Trichoderma harzianum*: An Overview. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*, 2021, vol. 10, no. 6, pp. 32-39.
28. Pramanick B., Bera A., Saha P., Barman A. Soil Microflora and Their Interaction with Plants Under Changing Climatic Scenarios. *Microbial Symbionts and Plant Health: Trends and Applications for Changing Climate*, 2023, vol. 1, no. 2, pp. 19-40. https://doi.org/10.1007/978-981-99-0030-5_2
29. Putranto W.A., Nugroho R. A., Hardiyanta S.P., Cahyaningrum D.Ch. Are *Trichoderma atroviride* and *Trichoderma harzianum* effective to control *Fusarium* associated with tomato wilt? *Microbiology Indonesia*, 2021, vol. 15, no. 3, pp. 84-90 <https://doi.org/10.5454/mi.15.3.2>
30. Rola K., Majewska E., Chowaniec K. Interaction effect of fungicide and chitosan on non-target lichenized fungi. *Chemosphere*, 2023, vol. 316, 137772 p. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.137772>

31. Sana B. S., Sumaira H., Dar M. S. et al. Morpho-cultural and molecular characterization of *Trichoderma* species from apple rhizosphere of North-western Himalayan temperate region of India. Preprint (Version 1) available at Research Square, 2023. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2429359/v1>
32. Tucci M., Ruocco M., Masi L. D., Palma M. D., Lorito M. The beneficial effect of *Trichoderma spp.* on tomato is modulated by the plant genotype. *Molecular Plant Pathology*, 2011, vol. 12, no. 4, pp. 341–354. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2010.00674.x>
33. Tyskiewicz R., Nowak A., Ozimek E., Jaroszuk-Sciseł J. *Trichoderma*: the current status of its application in agriculture for the biocontrol of fungal phytopathogens and stimulation of plant growth. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, vol. 23, no. 4, 2329 p. <https://doi.org/10.3390/ijms23042329>
34. Viglas J., Olejnikova P. *Trichoderma atroviride*: an isolate from forest environment with secondary metabolites with high antimicrobial potential. *Acta Chimica Slovaca*, 2019, vol. 12, no. 1, pp. 46-55. <https://doi.org/10.2478/acs-2019-0008>
35. Xue P., Liu X., Jia H., Yuan H., Liu B., Zhang J., He Z. Environmental behavior of the chiral fungicide epoxiconazole in earthworm-soil system: Enantioselective enrichment, degradation kinetics, chiral metabolite identification, and biotransformation mechanism. *Environment International*, 2022, vol. 167, 107442 p. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107442>
36. Yassin M.T., Mostafa A.A.F., Al-Askar A.A., Sayed S.R.M., Rady A.M. Antagonistic activity of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* strains against some fusarial pathogens causing stalk rot disease of maize, in vitro. *Journal of King Saud University – Science*, 2021, vol. 33, no. 3, 101363 p. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2021.101363>

ВКЛАД АВТОРОВ

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку статьи для публикации.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

The authors contributed equally to this article.

ДАнные ОБ АВТОРАХ

Кузнецова Виктория Евгеньевна, инженер-исследователь лаборатории экологической биотехнологии
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского Сибирского Отделения Российской Академии Наук»

*ул. Фаворского, 1, г. Иркутск, 664033, Российская Федерация
uchiha-viksyia@mail.ru*

Матвеева Елена Александровна, к. хим. наук, научный сотрудник лаборатории экологической биотехнологии

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского Сибирского Отделения Российской Академии Наук»

*ул. Фаворского, 1, г. Иркутск, 664033, Российская Федерация
elenamatveeva01@yandex.ru*

Беловежец Людмила Александровна, д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории экологической биотехнологии

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского Сибирского Отделения Российской Академии Наук»

*ул. Фаворского, 1, г. Иркутск, 664033, Российская Федерация
lyu-sya@yandex.ru*

DATA ABOUT THE AUTHORS

Victoria E. Kuznetsova, Research Engineer of the Laboratory of Environmental Biotechnology

Federal State-Funded Institution of Science the Irkutsk A.E. Favorsky Institute of Chemistry of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences 1, Favorskogo Str., Irkutsk, 664033, Russian Federation

uchiha-viksyia@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2056-1839>

Elena A. Matveeva, Candidate of Chemical Science, Research assistant of the Laboratory of Environmental Biotechnology

Federal State-Funded Institution of Science the Irkutsk A.E. Favorsky Institute of Chemistry of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences 1, Favorskogo Str., Irkutsk, 664033, Russian Federation

elenamatveeva01@yandex.ru

SPIN-code: 3232-8041

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1518-2738>

ResearcherID: GRS-7129-2022

Scopus Author ID: 57211065401

Lyudmila A. Belovezhets, Doctor of Biological Sciences, Leading researcher of the Laboratory of Environmental Biotechnology
Federal State-Funded Institution of Science the Irkutsk A.E. Favorsky Institute of Chemistry of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences
1, Favorskogo Str., Irkutsk, 664033, Russian Federation
lyu-sya@yandex.ru
SPIN-code: 6935-1947
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9847-9317>
ResearcherID: K-1495-2018
Scopus Author ID: 9233237100

Поступила 22.09.2023

После рецензирования 31.10.2023

Принята 11.11.2023

Received 22.09.2023

Revised 31.10.2023

Accepted 11.11.2023