

«»

УДК: 582.288

ИЗУЧЕНИЕ РОСТА И РАЗВИТИЯ ГРИБОВ-АНТАГОНИСТОВ НА РАЗЛИЧНЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ И СУБСТРАТАХ

Г.В. Песцов*, О.В. Прокудина, А.В. Третьякова

Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого, Тула, Россия

*Эл. почта: georgypestsov@gmail.com

Статья поступила в редакцию 24.0.2022; принята к печати 02.12.2022

В статье рассмотрены возможности применения зоогуруса насекомого *Hermetia illucens* (черной львинки) для культивирования грибов-антагонистов *Trichoderma viride* и *Paecilomyces lilacinus*. Изучен рост мицелия *Tr. viride* и *P. lilacinus* на питательных средах и субстратах с добавлением экстракта зоогуруса, продукта жизнедеятельности *H. illucens*, в различных концентрациях. Предлагаемые среды и субстраты можно использовать для выращивания грибов-антагонистов. Зоогурус повышает питательную ценность микробиологических сред и способствует активному развитию этих грибов.

Ключевые слова: *Trichoderma viride*, *Paecilomyces lilacinus*, зоогурус, защита растений, питательные среды.

STUDY OF THE GROWTH AND DEVELOPMENT OF ANTAGONIST FUNGI ON VARIOUS NUTRIENT MEDIA AND SUBSTRATES

G.V. Pestsov*, A.V. Prokudina, O.V. Tretyakova

Lev Tolstoy Tula State Pedagogical University, Tula, Russia

*Email: georgypestsov@gmail.com

The article discusses the possibilities of using the zoohumus produced by black-soldier *Hermetia illucens* larvae the cultivation of antagonistic fungi *Trichoderma viride* and *Paecilomyces lilacinus*. Experiments were carried out to study the growth of *Tr. viride* and *P. lilacinus* mycelia on nutrient media and substrates supplemented with zoohumus extract, a product of the vital activity of the insect *H. illucens*, in various concentrations. The proposed media and substrates can be used for growing antagonist fungi. Zoohumus increases the nutritional value of microbiological media and promotes the active development of these fungi.

Keywords: *Trichoderma viride*, *Paecilomyces lilacinus*, zoohumus, plant protection.

Глобальное использование химических средств защиты растений в сельском хозяйстве приводит к загрязнению среды, накоплению пестицидов в почве, воде и сельскохозяйственной продукции, нарушениям структуры биоценозов и снижению их способности к саморегуляции. В популяциях фитопатогенных организмов возрастает устойчивость к пестицидам и снижается эффективность их применения [6]. Для получения экологически безопасной продукции растениеводства необходимо до минимума снизить применение химических средств защиты растений. Альтернативой или дополнением к химическому методу борьбы с вредными организмами должен быть биологический метод защиты растений, основанный на применении различных групп антагонистов, гиперпаразитов, хищников, способных сдерживать развитие фитопатогенов на экономически незначимом уровне. Метаболитные биопрепараты обычно содержат одно или комплекс биологически активных веществ, ингибирующих развитие патогена. Такой подход предполагает экологически обоснованное применение организмов-интродуцентов, способных вступать во взаимодействия с возбудителями болезней и снижать плотность их популяций на разных стадиях развития. Использование агентов биологического контроля для регулирования динамики развития популяций вредных организмов должно быть основано на знании специфики их биоценологических отношений и естественных регуляторных механизмов в агроэкосистемах [7].

Применение биологических агентов особенно перспективно в условиях защищенного грунта, где крайне нежелательно использовать химические препараты. При этом интродуценты (биологические агенты) должны обладать высокой конкурентоспособностью, биологической активностью и иметь широкий адаптационный потенциал. Для биологического контроля фитопатогенов используют биопрепараты на основе живых культур микроорганизмов и продуктов их метаболизма [1, 2].

Микромицет *Rhizoglyphus lilacinus* (Thom) Samson – эндопаразит галловых нематод, оказывающий супрессивное действие на их популяции. Этот вид является почвенным сапрофитом, который способен быстро размножаться в почвогрунтах и колонизировать субстрат. *Trichoderma viride* используется в качестве биологического средства борьбы с грибами-фитопатогенами. В природе встречается в почве [3].

Для наработки биомассы мицелия грибов антагонистов предлагается использовать зоогумус, продукт жизнедеятельности личинок мухи *Hermetia illucens*, который состоит из остатков непереваренного кормового субстрата, экскрементов и остатков хитинового внешнего покрова насекомого, а также специфической микрофлоры, состоящей из дрожжей и бактерий. В настоящее время разработаны оптимальные условия для роста, развития и размножения этого вида мухи в искусственно созданных лабораторных условиях или в специальных установках. В результате культивирования в организме личинки мухи накапливается комплекс веществ, процентное содержание которых зависит от качества корма. Основные питательные вещества зоогумуса находятся в виде различных соединений гуминовых кислот и содержат в себе необходимые макро- и микроэлементы [5]. Зоогумус применяется как органическое удобрение для сельскохозяйственных культур, в лесоводстве и цветоводстве, а также для ремедиации загрязненных почв. Он не токсичен, свободен от каких-либо вредных примесей. Его использование в растениеводстве позволяет получать экологически чистую сельскохозяйственную продукцию [4].

В работе были использованы штаммы грибов *P. lilacinus* и *Tr. viride* из государственной коллекции фитопатогенных микроорганизмов и сортов растений-идентификаторов патогенных штаммов микроорганизмов Всероссийского научно-исследовательского института фитопатологии. Стерильный мицелий пересевали в чашки Петри на стерильные агаризованные питательные среды различного состава. Для изучения радиального роста мицелия использовали 6 видов питательных сред: картофельно-глюкозный агар (контроль), агар Чапека-Докса, голодный агар с добавлением 10%, 40%, 70% и 100% раствора зоогумуса. Маточный раствор зоогумуса получали, помещая 100 г зоогумуса в 1 л воды. Замеры проводили на 3-е, 5-е и 7-е сутки. Чашки Петри помещали в термостат на 7 суток при температуре 25°C. Питательные среды стерилизовались в автоклаве при 1,2 атм. (60 мин). В каждой чашке Петри измеряли диаметр колонии, повторность опыта восьмикратная. Результаты радиального роста мицелия грибов антагонистов представлены в табл. 1.

Табл. 1.

Изучение роста мицелия гриба на питательных средах.

№	среда	<i>Tr. viride</i>				<i>P. lilacinus</i>			
		3 сутки	5 сутки	7 сутки	% контролю	3 сутки	5 сутки	7 сутки	% контролю
1	КА	6,7 ± 0,47	18,4 ± 1,06	29,2 ± 2,69	100	12,7 ± 1,02	23,1 ± 1,98	33,2 ± 2,56	100%
2	Чапека	10,5 ± 0,8	22,7 ± 1,82	34,4 ± 2,78	117,8	9,5 ± 0,80	15,5 ± 1,07	26,7 ± 1,3	80,42%
4	ЗГ 10%	3,5 ± 0,27	13,1 ± 1,18	24,6 ± 2,25	84,2	10,5 ± 0,93	20,7 ± 1,96	30,1 ± 2,51	90,66%
5	ЗГ 40%	23,0 ± 1,60	36,3 ± 2,09	65,25 ± 5,53	223,5	25,9 ± 2,12	43,6 ± 3,46	73,2 ± 4,16	220,48%
6	ЗГ 70%	21,4 ± 1,99	32,8 ± 2,42	57,3 ± 4,23	196,2	20,1 ± 1,53	37,3 ± 2,23	66,6 ± 4,92	200,60%
7	ЗГ 100%	11,8 ± 0,69	17,0 ± 1,47	33,1 ± 1,80	113,3	13,4 ± 1,19	25,3 ± 1,56	48,7 ± 2,89	73,12%

В результате было установлено, что для гриба *Tr. viride* в вариантах с использованием 40% и 70% зоогумуса отмечали более активное развитие мицелия и спороношение, диаметр колоний в варианте с 40% зоогумусом превышал контроль на 123,5%, а при использовании повышенной концентрации (100%) наблюдали снижение роста мицелия, превышение по сравнению с контролем составляло 13,3%, что свидетельствует о возможном ингибирующем эффекте зоогумуса при высоких концентрациях.

Для развития мицелия гриба *P. lilacinus* в вариантах с использованием 40% и 70% зоогумуса отмечали более высокую радиальную скорость роста мицелия, чем в контроле. Можно сделать вывод, что наиболее подходящими питательными средами для размножения вегетативного мицелия и спороношения для видов *P. lilacinus* и *Tr. viride* являются среды с добавлением экстракта зоогумуса в количестве 40% и 70%, на этих средах отмечали достаточно высокую скорость роста мицелия и его хорошее качество.

Для изучения возможности использования зоогумуса в качестве субстрата для наработки биомассы мицелия грибов *P. lilacinus* и *Tr. viride* были заложены опыты по изучению линейного роста мицелия на различных твердых субстратах. В опыте изучали субстраты следующего состава: субстрат из чистого обработанного зерна пшеницы (ЗП) – контроль; субстрат из свежего зоогумуса (ЗГ), субстрат из зоогумуса, который вымачивали в воде 48 часов и сушили (ЗГ2) и зоогумуса, который вымачивали в воде 96 часов и сушили (ЗГ4). Культивирование микромицетов проводили в пробирках при температуре 24°C. Субстрат в пробирках инокулировали мицелием. Учет линейного роста мицелия при зарастании пробирок проводили на 3, 6 и 9 сутки (табл. 2).

В результате проведенной работы было установлено, что скорость роста мицелия гриба *P. lilacinus* на твердых субстратах была более высокой в варианте 3 (ЗГ 2). На данном субстрате был самый быстрый линейный рост мицелия, который на 31,7% превышал рост мицелия на зерне (контроль). На субстратах в вариантах 2 (ЗГ) и 4 (ЗГ4) также наблюдали высокую скорость роста, превышающую контроль на 4,6% и 18,6% соответственно. Для гриба вида *Tr. viride* наилучшими субстратами были варианты 2 (ЗГ), 3 (ЗГ2) и 4 (ЗГ4), там скорость роста мицелия была выше по сравнению с контролем на 39,2%, 78,4% и 67,1% соответственно. Таким образом, зоогумус может быть хорошим заменителем зерна пшеницы и увеличить производство и повысить рентабельность биопрепаратов на основе грибов-антагонистов *Tr. viride* и *P. lilacinus*.

Роста мицелия гриба *Tr.viride* и *P. lilacinus* на питательных субстратах.

№	среда	<i>P. lilacinus</i>				<i>Tr.viride</i>			
		3 сутки	6 сутки	9 сутки	% контролю	3 сутки	6 сутки	9 сутки	% контролю
1	ЗП	2,6 ± 0,25	6,4 ± 0,52	10,7 ± 0,76	100,0%	1,8 ± 0,16	4,6 ± 0,38	7,9 ± 0,46	100,0%
2	ЗГ	3,2 ± 0,29	8,1 ± 0,52	11,2 ± 0,83	104,6%	3,2 ± 0,29	6,9 ± 0,46	11,0 ± 0,8	139,2%
3	ЗГ2	5,1 ± 0,46	10,1 ± 0,87	14,1 ± 0,46	131,7%	3,9 ± 0,33	8,2 ± 0,60	14,1 ± 1,46	178,4%
4	ЗГ4	3,5 ± 0,27	7,4 ± 0,65	12,7 ± 0,62	118,6%	2,6 ± 0,25	6,7 ± 0,47	13,2 ± 0,56	167,1%

Исследование выполнено в рамках гранта правительства Тульской области в сфере науки и техники 2021 года «Биотехнологическая утилизация органических отходов при помощи личинок насекомого *Hermetia illucens* (черная львинка) и получение новых продуктов» по договору №ДС/263 от 25.10.2021 г.

Литература

1. Глазунова АВ, Песцов ГВ. Использование энтомопатогенных грибов в борьбе с вредителями плодово-ягодных культур. В кн.: Мониторинг и биологические методы контроля вредителей и патогенов древесных растений: от теории к практике. 2019;55-6.
2. Лушников ОВ, Глазунова АВ, Песцов ГВ. Изучение способов повышения агрессивности эндопаразитов фитопатогенных галловых нематод. Вестник современных исследований. 2018;9(3):11-2.
3. Лушников ОВ, Глазунова АВ, Песцов ГВ. Использование эндопаразитов фитопатогенных галловых нематод для борьбы с ними. Приднепровский научный вестник. 2018;9(1):93-6.
4. Истомин ИИ, Истомин АИ, Дедяева ВВ. Патент РФ № 2644343С2, 23.09.2020 Способ переработки биологических отходов с получением белкового корма и биоудобрения. Патент России 2644343. Бюллетень; 2018:(4).
5. Пендюрин ЕА, Смоленская ЛМ, Святченко АВ. Использование зоокомпоста культивирования личинок мухи черная львинка (*Hermetia illucens*) при выращивании огурцов. Вестник аграрной науки. 2021;(1):56-62.
6. Песцов ГВ, Глазунова АВ, Лушников ОВ, Шабалина МА. Изучение возможности использования энтомопатогенных грибов для снижения плотности популяции клещей-фитофагов. Аграрная наука. 2019;(S2):126-9.
7. Песцов ГВ, Лушников ОВ, Глазунова АВ. Нематопатогенные грибы как основа биологического метода борьбы с галловыми нематодами. Аграрная наука. 2019;(S2):122-5.

References

1. Glazunova AV, Pestsov GV. [Using entomopathogenic fungi for controlling pests of fruits and berries]. In: Monitoring i Biologicheskiye Metody Kontrolya Vrediteley i Patogenov Drevesnykh Rasteniy: Ot Teorii k Praktike. 2019. P.55-6. (In Russ.)
2. Lushnikov OV, Glazunova AV, Pestsov GV. [Studies of approaches to increasing the aggressiveness of endoparasites of phytopathogenic gall eelworms]. Vestnik Sovremennykh Issledovaniy. 2018;9(3):11-2. (In Russ.)
3. Lushnikov OV, Glazunova AV, Pestsov GV. [Using endoparasites of phytopathogenic gall eelworms for control thereof]. Pridneprovskiy Nauchnyi Vestnik. 2018;9(1)93-96. (In Russ.)
4. Istomin II, Istomin AI, Dediayeva VV. Sposob Pererabotki Biologicheskikh Otkhodov s Polucheniyem Belkovogo Korma i Bioudobreniya. RF Patent № 2644343C2 of 23.09.2020. Biulleten;2018(4). (In Russ.)
5. Pendiurin YeA, Smolenskaya LM, Svyatchenko AV. [Using a zoocompost produced by the larvae of *Hermetia illucens* flies for cucumber growing]. Vestnik Agrarnoy nauki. 2021;(1):56-62. (In Russ.)
6. Pestsov GV, Glazunova AV, Lushnikov OV, Shabalina MA. [Investigation into the possibility of using entomopathogenic fungi to decrease phytophage mite population density] Agrarnaya Nauka. 2019;(S2):126-9. (In Russ.)
7. Pestsov GV, Lushnikov OV, Glazunova AV. [Nematopathogenic fungi as a biologic means for gall eelworms control]. Agrarnaya Nauka. 2019;(S2):122-5. (In Russ.)

«»