

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В.ЛОМОНОСОВА

На правах рукописи

Стариков Павел Андреевич

**Комплексы микромицетов рода *Trichoderma* с бактериями-дiazотрофами
и их агробιοтехнологический потенциал**

1.5.11. Микробиология

4.1.3. Агрoхимия, агропoчвоведение,
защита и карантин растений

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва – 2026

Диссертация подготовлена на кафедре агробιοтехнологии, ландшафтной архитектуры и пищевых производств института инженерии и агробιοтехнологии Вятского государственного агротехнологического университета

Научный руководитель – *Домрачева Людмила Ивановна* – доктор биологических наук, профессор

Официальные оппоненты – *Алфёров Алексей Анатольевич* – доктор биологических наук, член-корреспондент РАН, Российская академия наук, Отдел сельскохозяйственных наук РАН, начальник отдела – заместитель академика-секретаря Отделения сельскохозяйственных наук по научно-организационной работе

Лысак Людмила Вячеславовна – доктор биологических наук, доцент, Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, факультет почвоведения, кафедра биологии почв, профессор

Батаева Юлия Викторовна – доктор биологических наук, доцент, Российский государственный аграрный университет — МСХА имени К.А. Тимирязева, институт агробιοтехнологии, кафедра биотехнологии, профессор

Защита диссертации состоится «19» мая 2026 г. в 17:00 на заседании диссертационного совета МГУ.015.2 Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова по адресу: 119234, г. Москва, ул. Ленинские горы, д. 1, стр. 12, биологический факультет, аудитория М-1. Тел: 8(495)-939-35-46

Е-mail: nvkostina@mail.ru

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ имени М.В.Ломоносова (Ломоносовский просп., д. 27) и на сайте ИАС «ИСТИНА»: <https://dissovet.msu.ru/dissertation/3849>

Автореферат разослан « » 2026 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук

Н.В. Костина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность и степень разработанности темы исследования. По причине ежегодного возрастания техногенной нагрузки на экосистемы устойчивое развитие сельского хозяйства невозможно без разработки и внедрения новых биотехнологий. Данное направление является актуальным согласно Распоряжению Правительства РФ от 31 декабря 2020 года №3684-р об утверждении Программы фундаментальных научных исследований в РФ на долгосрочный период (2021–2030 гг.). Важное место в создании биотехнологических продуктов занимают грибы рода *Trichoderma*, среди которых известно множество штаммов с агрономически ценными свойствами (Садыкова и др., 2015; Литовка, 2018; Войтка и др., 2019; Guzmán-Guzmán et al., 2025). При этом в последние годы возросло внимание к использованию в агrobiотехнологии микробных комплексов, в том числе на основе триходермы (Barbosa et al., 2022; Velmourougane et al., 2025). Грамотно подобранные ассоциации и композиции штаммов, в отличие от их монокультур, гораздо чаще демонстрируют комплексное воздействие на агrobiоценозы (Панкратова и др., 2008; Домрачева и др., 2009).

В качестве потенциальных партнёров *Trichoderma* spp. рассматриваются группы бактерий-азотфиксаторов. Положительный агрономический эффект наблюдался при изучении комплексов триходермы с бактериями родов *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Rhizobium*, *Anabaena* и др. (Михайловская и др., 2021; Saber et al., 2009; Prasanna et al., 2016; Velmourougane et al., 2019; Neelipally et al., 2020). Подавляющее большинство полевых испытаний комплексов *Trichoderma* spp. с диазотрофами приводилось в тропической и субтропической зонах (Prasanna et al., 2014; Barbosa et al., 2022). В то же время имеется небольшое количество исследований с данными об агrobiотехнологическом использовании таких микробных комплексов в условиях умеренных широт (Авдеенко и др., 2014; Михайловская и др., 2021).

Современное мировое сельское хозяйство сталкивается с развитием агrobiотерроизма (Roberge, 2015; Kumar, 2024), изменением климата

(Шешегова, Щеклеина, 2022) и, как следствие, усилением вредоносности фитопатогенов, что требует совершенствования традиционных подходов по защите растений и повышению их продуктивности, включая использование биотехнологий. Так, в многолетних исследованиях кафедры агробиотехнологии, ландшафтной архитектуры и пищевых производств (далее – АЛАиПП) Вятского ГАТУ доказана применимость различных азотфиксаторов в системе земледелия (Калинин, 1995; Ковина, 2001; Панкратова и др., 2004; Домрачева и др., 2019). Несмотря на широкую практику применения биопрепаратов на основе бактерий-азотфиксаторов (Завалин, 2022; Степанов и др., 2023), оставались неисследованными отдельные аспекты агробиотехнологического потенциала комплексов микромицетов *Trichoderma* spp. и diaзотрофов, включая их влияние на продуктивность сельскохозяйственных культур в зоне Евро-Северо-Востока России.

Всё вышесказанное говорит о необходимости создания эффективных комплексов грибов рода *Trichoderma* и diaзотрофов с целью последующего их многоканального использования в агробиотехнологии, в том числе в системе земледелия умеренной климатической зоны.

Цель работы: оценка возможности агробиотехнологического применения комплексов микромицетов *Trichoderma* spp. с цианобактериями и гетеротрофными бактериями-азотфиксаторами для повышения продуктивности агроценозов.

Основные задачи исследования.

1. Выявить путём скрининга изоляты грибов рода *Trichoderma* с выраженными антифунгальными свойствами и оценить их биосовместимость со штаммами цианобактерий и гетеротрофных бактерий-азотфиксаторов.
2. Исследовать в условиях *in vitro* фиторегуляторные свойства комплексов *Trichoderma* spp. и diaзотрофов и их ферментативную активность.
3. Оценить биоконтрольный потенциал триходермально-diazотрофных комплексов в условиях почвы, заражённой фитопатогеном

Fusarium culmorum, а также их влияние на биологическую активность ризосферной почвы.

4. Изучить действие комплексов микромицетов рода *Trichoderma* и diaзотрофных штаммов на рост и развитие мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) в полевых мелкоделяночных опытах.

5. Провести комплексную эколого-токсикологическую оценку микробных инокулянтов *Trichoderma* spp. и diaзотрофов, включающую исследование их влияния на аборигенный почвенный микробиом и оценку острой токсичности на препарате «Эколюм» и ракообразных *Daphnia magna*.

Научная новизна работы. Доказана в условиях *in vitro* антагонистическая активность нового изолята *Trichoderma atroviride* К-01П в отношении грибных фитопатогенов, а также его биосовместимость с diaзотрофами *Fischerella muscicola* 300, *Azotobacter chroococcum* РП-22 и *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* 348a.

В опытах *in vitro* с проростками горчицы белой (*Sinapis alba* L.), яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) и клевера паннонского (*Trifolium pannonicum* Jacq.) показаны агрономическая применимость и фитостимулирующие свойства комплексов *T. atroviride* К-01П, *F. muscicola* 300, *A. chroococcum* РП-22 и *R. leguminosarum* 348a. Проведена оценка полевой эффективности цианотриходермального комплекса *T. atroviride* К-01П + *F. muscicola* 300 в мелкоделяночных опытах при предпосевной инокуляции мягкой пшеницы.

Создан комплекс штаммов *T. atroviride* К-01П + *A. chroococcum* РП-22, обладающий более высокой целлюлазной и фосфатслюбилизирующей активностью, чем монокультура *T. atroviride* К-01П.

Установлена способность комплексов *T. atroviride* К-01П с *A. chroococcum* РП-22 и *F. muscicola* 300 снижать развитие корневых гнилей у проростков пшеницы в условиях инфекционного фона *F. culmorum* Р/з-16, усиливать азотфиксацию и эмиссию углекислого газа в ризосфере пшеницы, а также методом мультисубстратного тестирования (МСТ) доказана способность микробного инокулянта *T. atroviride* К-01П + *A. chroococcum* РП-22 +

F. muscicola 300 расширять метаболические возможности ризосферного микробиома.

Теоретическая и практическая значимость работы. Результаты, полученные в ходе диссертационного исследования, расширяют традиционные представления о возможности использования грибов рода *Trichoderma* и бактерий-азотфиксаторов в агробιοтехнологии, обусловленной повышением их эффективности в составе микробных комплексов.

Выделены из различных экотопов 26 природных изолятов микромицетов рода *Trichoderma* с целью исследования возможности их применения в агробιοтехнологии. Отобран активный штамм *T. atroviride* К-01П с сильной антифунгальной активностью в отношении грибных фитопатогенов. Выделены микромицеты родов *Fusarium*, *Sclerotinia*, которые используются в качестве тест-организмов для выявления природных штаммов, обладающих биоконтрольными свойствами.

На основе *T. atroviride* К-01П, а также diaзотрофных штаммов *F. muscicola* 300, *A. chroococcum* РП-22 и *R. leguminosarum* 348a, составлены микробные комплексы, обладающие фитостимулирующими, фунгицидными, целлюлозолитическими, фосфатсолубилизирующими свойствами.

Разработанный в рамках исследования бинарный инокулянт *T. atroviride* К-01П + *F. muscicola* 300 для защиты и стимуляции роста растений прошёл 2 года мелкоделяночных испытаний в фитопитомнике Федерального аграрного научного центра Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого (г. Киров). Результаты опытов оформлены в виде акта полевых испытаний (межучрежденческий уровень внедрения). Материалы диссертации используются на лабораторных занятиях со студентами агрономического направления Вятского ГАТУ по дисциплинам «Микробиология», «Использование микроорганизмов в сельском хозяйстве», «Методы количественного учёта микроорганизмов», «Почвенные микроорганизмы» (учрежденческий уровень внедрения).

Объект и предмет исследования. Объектами исследования служили штаммы микромицетов *Trichoderma* spp. и diaзотрофов, а также растения

яровой мягкой пшеницы, горчицы белой и клевера паннонского. В качестве предмета исследования выступало агробιοтехнологическое применение комплексов новых природных штаммов-антагонистов рода *Trichoderma* с различными группами бактерий-азотфиксаторов.

Методология и методы диссертационного исследования. Методология исследования соответствовала поставленным задачам. В качестве специальных экспериментальных методов использовали микробиологические, биохимические, агрономические, биотехнологические, экотоксикологические методы, а также методы статистической обработки данных.

Положения, выносимые на защиту.

1. Штамм *Trichoderma atroviride* К-01П обладает антифунгальной, ферментативной и фиторегуляторной активностью, биосовместим с диазотрофами и экологически безопасен, вследствие чего является перспективным для разработки полифункциональных биопрепаратов.

2. Интродукция комплексов *T. atroviride* К-01П с *A. chroococcum* РП-22 и *F. muscicola* 300 повышает интенсивность эмиссии CO₂ и азотфиксации в ризосферной почве и способствует возрастанию пула фотосинтетических пигментов у мягкой пшеницы.

3. Комплексы *T. atroviride* К-01П, *F. muscicola* 300 и *A. chroococcum* РП-22 обладают более сильными биоконтрольными свойствами в сравнении с монокультурами данных штаммов.

4. Инокуляция семян мягкой пшеницы штаммами *T. atroviride* К-01П, *F. muscicola* 300 и их комплексами повышает урожайность и не угнетает микробиоту в почве под посевами.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность результатов исследования определяется использованием современных методов исследования в соответствии с поставленной целью и задачами, достаточным по объёму фактическим материалом и наличием соответствующих контролей, а также использованием методов статистической обработки экспериментальных данных.

Материалы диссертации представлены в виде докладов на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных систем» (Киров, 2021, 2024); Международной научно-практической конференции «Экология родного края: проблемы и пути их решения» (Киров, 2023–2025); Всероссийской Пущинской конференции «Биохимия, физиология и биосферная роль микроорганизмов» (Пущино, 2024); Международной научной конференции «Роль почв в биосфере и жизни человека» (Москва, 2025); Ежегодной научной сессии аспирантов и молодых ученых (Вологда, 2025).

Личный вклад автора. Вклад автора в подготовку диссертационной работы заключался в поиске и анализе литературных источников, постановке цели и задач исследования, подборе экспериментальных методик, планировании и проведении экспериментов, статистической обработке данных, а также в подготовке материалов для публикаций и их апробации. Все экспериментальные работы с привлечением узкопрофильных специалистов, связанные с проведением фитопатологической оценки в рамках мелкоделяночных опытов, экотоксикологических и биохимических исследований, анализа альгоцианофлоры выполнены с непосредственным участием автора диссертации. Суммарный личный вклад соискателя составляет более 80%.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 7 печатных работ, из них 7 статей в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ имени М.В.Ломоносова. В статьях, опубликованных в соавторстве, основополагающий вклад принадлежит соискателю.

Структура и объём диссертации. Работа изложена на 157 страницах машинописного текста, содержит 25 рисунков, 20 таблиц. Диссертация состоит из следующих частей: введения, обзора и анализа литературы, объектов и методов исследования, главы результатов исследования и обсуждений, а также заключения, выводов и библиографического списка, включающего 263

литературных источника, в том числе 142 – на иностранном языке, 7 приложений.

Благодарности. Автор искренне благодарит научного руководителя д.б.н., профессора **Л. И. Домрачеву** за поддержку в работе над диссертацией, к.б.н. **А. И. Фокину** и к.б.н. **С. Ю. Огородникову** за помощь в биохимических опытах, д.б.н. **Т. К. Шешегову** и к.с.-х.н. **Л. М. Щеклеину** за помощь в полевых опытах, д.б.н. **Л. В. Кондакову** за участие в исследовании цианоальгофлоры, д.б.н. **А. С. Олькову** за помощь в токсикологических исследованиях, к.б.н. **Н. В. Костину** и к.б.н. **М. В. Горленко** за помощь в газохроматографическом анализе и МСТ. Автор выражает признательность д.б.н. **И. Г. Широких** за предоставление культур фитопатогенов, зав. лаб. биомониторинга Коми НЦ УрО РАН д.т.н. **Т. Я. Ашихминой** и зав. каф. биологии почв МГУ им. М.В.Ломоносова д.б.н. **А. Л. Степанову** за предоставление оборудования для проведения работы, а также коллективу и студентам кафедры АЛАиПП Вятского ГАТУ за содействие в совместных опытах.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В главе описали основные биологические свойства грибов рода *Trichoderma* и применения этих микромицетов в агробιοтехнологии как в виде монокультур, так и в сочетании с бактериями-азотфиксаторами.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объекты исследования. Объектами исследования являлись 26 природных изолятов микромицетов рода *Trichoderma*. Для оценки антифунгальной активности *Trichoderma* spp. использовали чистые культуры фитопатогенов, часть которых получена из ФАНЦ Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого. В качестве партнёров триходермы использовали альгологически чистую культуру цианобактерии (ЦБ) *Fischerella muscicola* 300 из коллекции

кафедры АЛАиПП Вятского ГАТУ, чистую культуру *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* 348a из ВНИИСХМ, и *Azotobacter chroococcum* РП-22.

Также в качестве объектов исследования выступали растения яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Баженка, горчицы белой (*Sinapis alba* L.) и клевера паннонского (*Trifolium pannonicum* Jacq.) сорта Снежок.

Ключевые методы исследования. Для первичной идентификации микробных штаммов использовали определители Берджи и Соттона. Идентификацию перспективных микромицетов провели путём анализа последовательностей ITS1-генов 5.8S рРНК-ITS2, бактерий – путём анализа вариабельного участка V3-V4 гена 16S рРНК в ООО «Синтол» (Москва).

Биосовместимость грибов рода *Trichoderma* с другими микроорганизмами и характер антагонистического действия *Trichoderma* spp. определяли согласно (Егоров, 1976; Войтка и др., 2019).

Для получения микробных инокулянтов суспензии *Trichoderma* spp., *A. chroococcum* и *R. leguminosarum* готовили путём смыва клеток с поверхности агаровых сред стерильной дистиллированной водой. Перед использованием культуру *F. muscicola* гомогенизировали согласно (Фокина и др., 2017).

Фитостимулирующие свойства *T. atroviride* К-01П и diaзотрофов на горчице белой, мягкой пшенице и клевере паннонском оценивали *in vitro* методом влажных камер (Стариков, Домрачева и др., 2025), индекс роста (ИР) определяли по (Андреева, Кожевин, 2014).

Ауксинпродуцирующую способность *T. atroviride* К-01П определяли по методике (Мерзаева, Широких, 2010)

Целлюлозолитическую активность *Trichoderma* spp. определяли по (Билай, 1973; Вырасткова, Широких, 2017). Способность комплекса *T. atroviride* К-01П и *A. chroococcum* РП-22 к разложению целлюлозы исследовали согласно (Стариков, Домрачева и др., 2025). При исследовании фосфатсольюбилизирующей способности комплекса *T. atroviride* К-01П и *A. chroococcum* РП-22 концентрацию белка определяли по (Waterborg, 2009), подвижного фосфора – по (РД 52.24.382-2006).

Пригодность питательных сред для культивирования *Trichoderma* spp. оценивали согласно (Стариков, Домрачева, Скугорева, 2022). Сравнивали показатели роста *T. atroviride* К-01П на картофельно-глюкозном агаре (КГА) и агаризованной среде Чапека в зависимости от pH. Для подбора наиболее оптимальной среды для роста культивировали *T. atroviride* К-01П на агаризованных средах с pH 5,5 и оценивали продуктивность конидиогенеза.

Биоконтрольный потенциал комплексов *T. atroviride* К-01П с *F. muscicola* 300 и *A. chroococcum* РП-22 при культивировании в почве с *F. culmorum* Р-3/16 исследовали согласно (Стариков, Олькова и др., 2025).

Модельный опыт по выращиванию мягкой пшеницы на среднесуглинистой почве (Albic retisol) (1,85% гумуса; K₂O – 260 мг/кг; P₂O₅ – 280 мг/кг; NO₃⁻ – 5,4 мг/кг; pH_{KCl} 5,0) в вегетационных сосудах провели согласно (Стариков, Костина и др., 2025). Азотфиксирующую активность ризосферной почвы и эмиссию CO₂ определяли согласно (Степанов, Лысак, 2002). Функциональное разнообразие микроорганизмов оценивали по (ФР.1.37.2010.08619; ПНД ФТ 16.1.17-10). Кластерный анализ (Евклид—Вард) для данных МСТ проведён в программе STATISTICA.

Пигменты фотосинтеза в листьях определяли по (Шлык, 1971; Маслова и др., 1986; Зыкова и др., 2023). Интенсивность перекисного окисления липидов в листьях определяли по малоновому диальдегиду (МДА) (Лукаткин, Голованова, 1988).

Полевые испытания инокулянтов в посевах пшеницы в 2022–2023 гг. провели в фитопитомнике ФАНЦ Северо-Востока согласно (Григорьев, 1976; Доспехов, 1985; Чирков, 1986). Растения возделывали на среднесуглинистой почве (Albic retisol) (2,43–2,56% гумуса; K₂O – 232–304 мг/кг; P₂O₅ – 334–349 мг/кг; pH_{KCl} 5,0–5,4). Опыт закладывали по схеме (Шешегова и др., 2024).

Количественный учёт микробиоты в прикорневой зоне пшеницы проводили по методике (Стариков, Олькова и др., 2025). Исследование альгоцианофлоры на поверхности почвы под посевами проводили согласно (Кондакова и др., 2024).

Для оценки экологической безопасности метаболитов штаммов-антагонистов культивировали *T. atroviride* К-01П и *F. muscicola* 300 согласно (Стариков, Олькова и др., 2025). Экологическую безопасность фильтратов жидких культур (ФЖК) оценивали на препарате «Эколюм» за 30 мин экспозиции (ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.11-04) и по смертности *D. magna* за 96 ч (Кузнецова, Гончарова, 2022).

Математическая обработка результатов *in vitro* опытов с проростками растений и мелкоделяночных испытаний проведена в программе AGROS 2.07 с расчётом наименьшей существенной разницы с уровнем доверительной вероятности 95% ($НСР_{0,95}$). Для остальных опытов оценивали разброс данных путём подсчёта средних величин и среднего квадратичного отклонения для выявления доверительного интервала при 5%-ном уровне значимости в программах Microsoft Excel и STATISTICA.

На представленных диаграммах планки погрешностей отражают значения стандартного отклонения, в таблицах и на диаграммах символом «*» обозначены значимые отличия от контроля. В таблицах наибольшие значения показателей выделены жирным.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Антифунгальные свойства природных штаммов *Trichoderma* spp.

По результатам скрининга отобрали 2 штамма рода *Trichoderma* на основе их высокой антифунгальной активности в отношении *F. culmorum* Р/з-16. Секвенированием ITS1-генов 5.8S рРНК-ITS2 установили их принадлежность к *T. atroviride* и *T. koningii*. В последующих опытах *T. koningii* К-02Т показал антагонизм к *Aureobasidium pullulans* и *Alternaria alternata*, *T. atroviride* К-01П оказался активен по отношению к *A. alternata*, *A. pullulans*, *F. oxysporum* К-1, *Fusarium* sp. Т-21 (рис. 1). На основе более широкого спектра антифунгального действия в отношении тест-культур *T. atroviride* К-01П отобран для дальнейших более глубоких исследований.

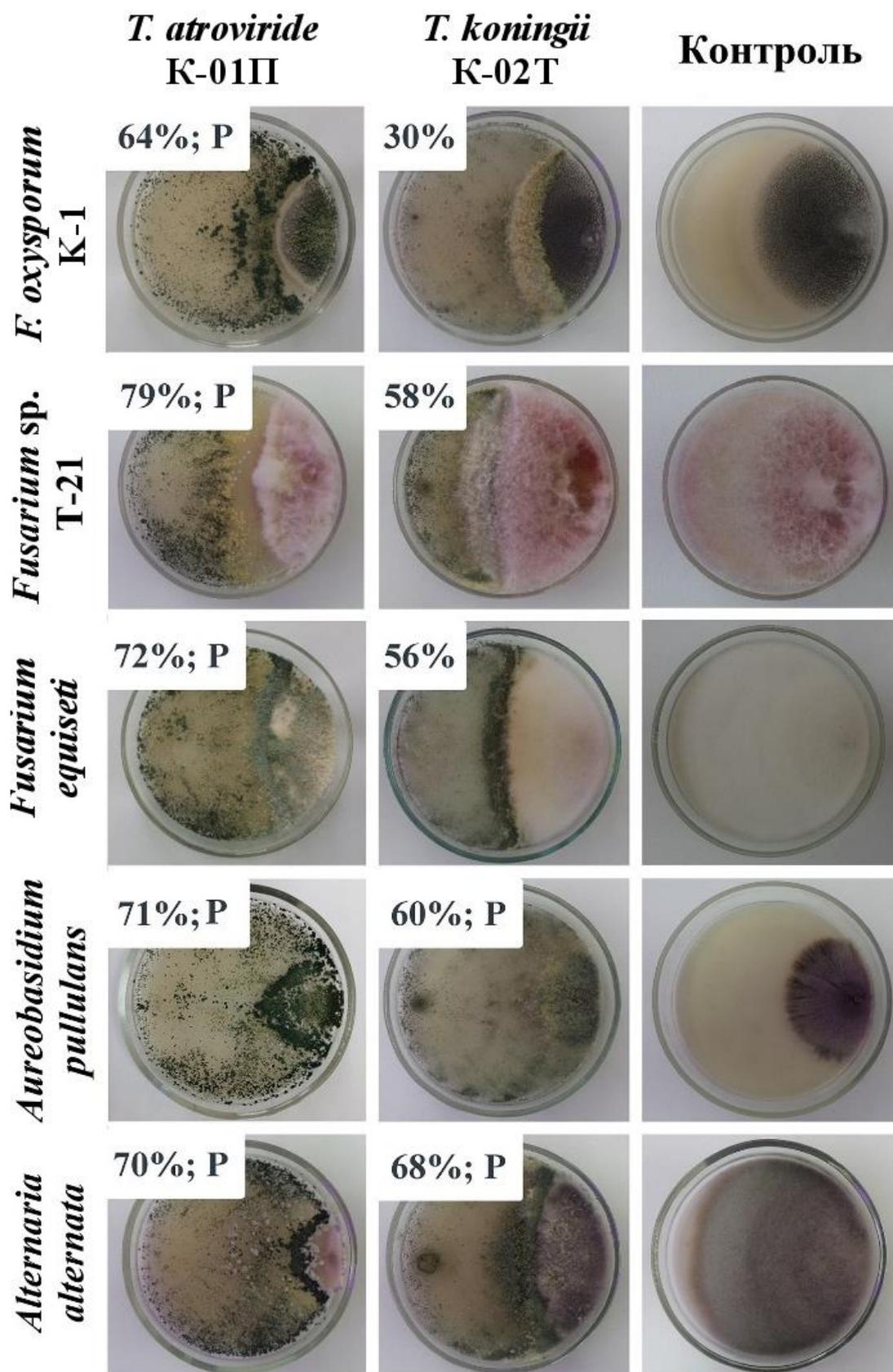


Рисунок 1. Антифунгальная активность *Trichoderma* spp. после 14 сут культивирования. В процентах – степень ингибирования роста тест-культур, P – рост антагониста на колонии тест-культуры

Совместимость *T. atroviride* и азотфиксаторов *in vitro*

При совместном культивировании *T. atroviride* К-01П не угнетается штаммами *A. chroococcum* РП-22, *R. leguminosarum* 348а и *F. muscicola* 300 (рис. 2). Об отсутствии антифунгального действия на *T. atroviride* судили по неспособности диазотрофов ограничивать рост микромицета путём образования стерильных зон. При этом бактерии-дiazотрофы не проявили антагонизма в отношении друг друга.

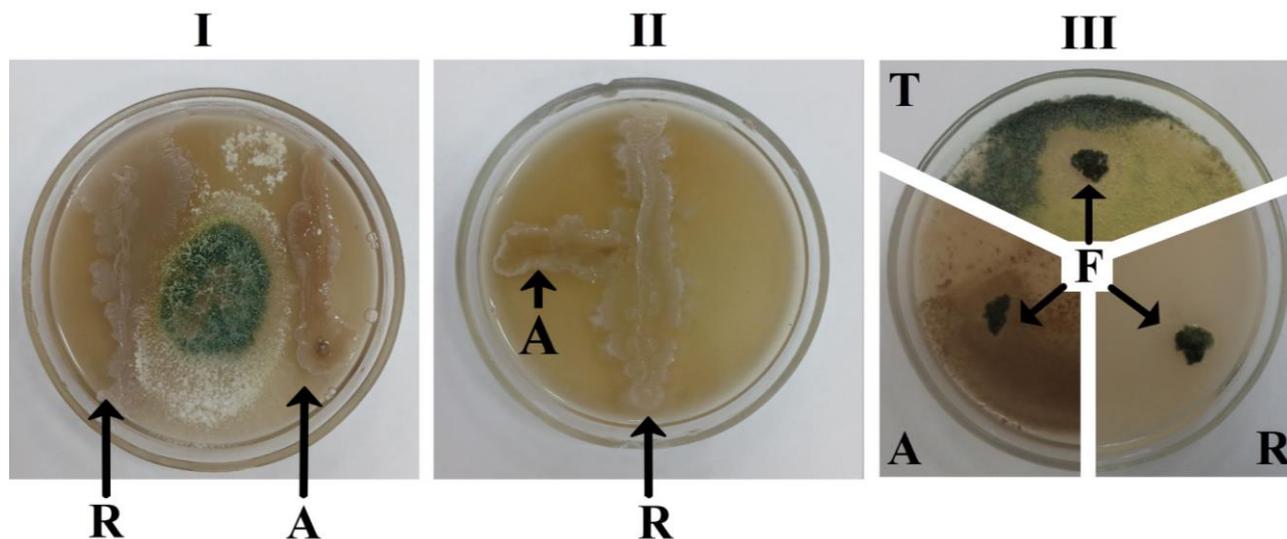


Рисунок 2: I – Рост *T. atroviride* в присутствии *R. leguminosarum* и *A. chroococcum*, 7 сут. II – Совместный рост *R. leguminosarum* и *A. chroococcum*, 7 сут. III – Рост газонов *T. atroviride*, *R. leguminosarum* и *A. chroococcum* в присутствии биоплёнок *F. muscicola*, 7 сут. Т – *T. atroviride*, R – *R. leguminosarum*, А – *A. chroococcum*, F – *F. muscicola*

Влияние *T. atroviride*, диазотрофов и их комплексов на проростки высших растений в опытах *in vitro*

Максимальное увеличение ИР (+33,2%) на горчице белой наблюдалось при инокуляции *F. muscicola* 300 (рис. 3). Наибольшая прибавка ИР (более 40,5%) у клевера паннонского была при инокуляции *A. chroococcum* РП-22, комплексом *R. leguminosarum* 348а + *A. chroococcum* РП-22 и *T. atroviride* К-01П + *A. chroococcum* РП-22 + *F. muscicola* 300 + *R. leguminosarum* 348а. Микробная

инокуляция семян пшеницы не привела к увеличению ИР относительно контроля ни в одном из вариантов.

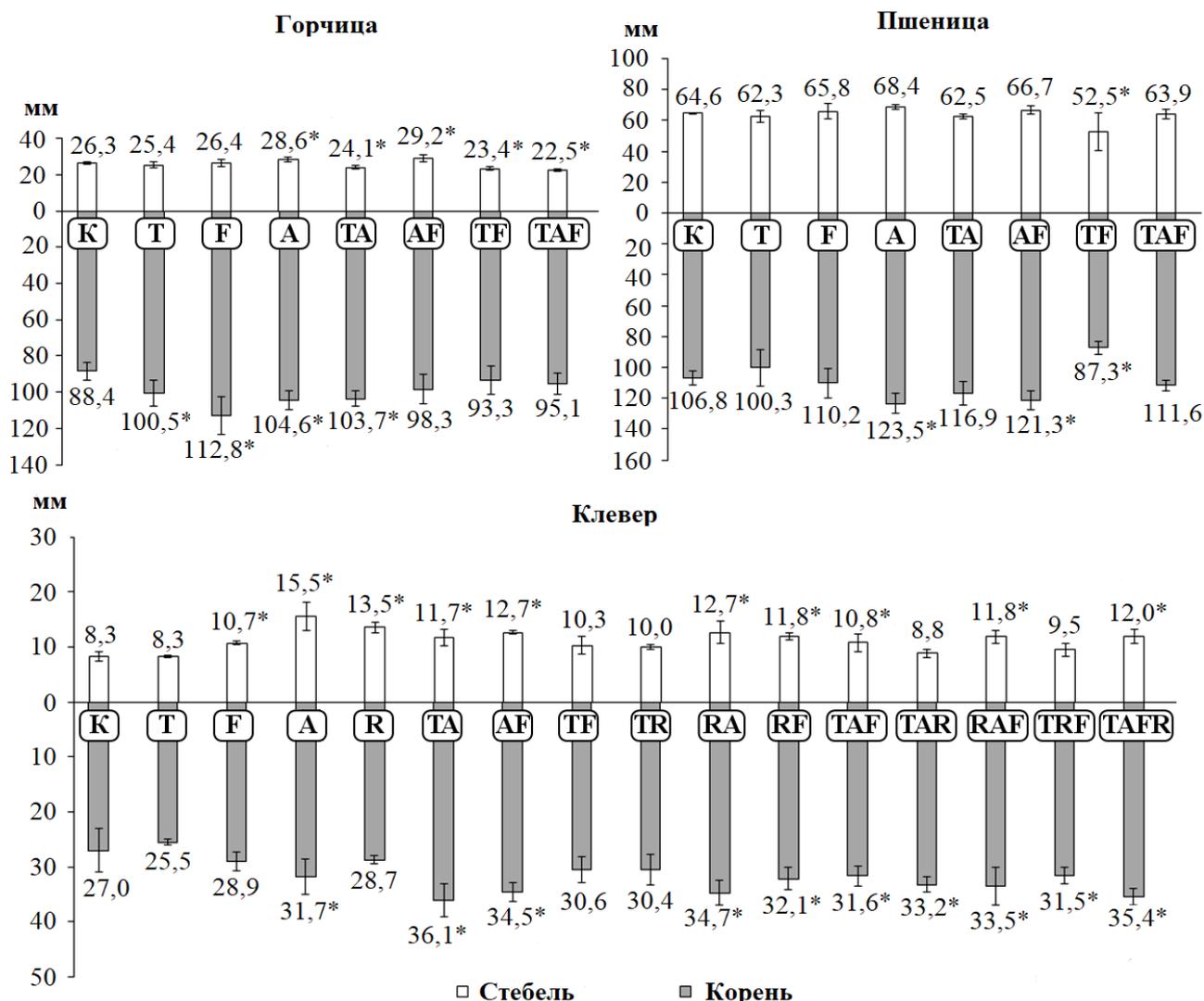


Рисунок 3. Рост проростков, 6 сут. после посева: К – контроль, Т – *T. atroviride*, F – *F. muscicola*, А – *A. chroococcum*, R – *R. leguminosarum*. В процентах – прибавка показателя к контролю. НСР_{0,95} – горчица: стебель – 1,877; корень – 11,561; пшеница: стебель – 6,200; корень – 13,560; клевер: стебель – 2,047; корень – 3,746

Ауксинпродуцирующие свойства *T. atroviride* К-01П

В течение 15 сут. культивирования *T. atroviride* К-01П не синтезировал детектируемые количества индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) в среде без предшественника. Пик концентрации ИУК в культуральной жидкости (КЖ) при росте в среде с 5мМ триптофана наблюдался на 11 сут. (рис. 4).

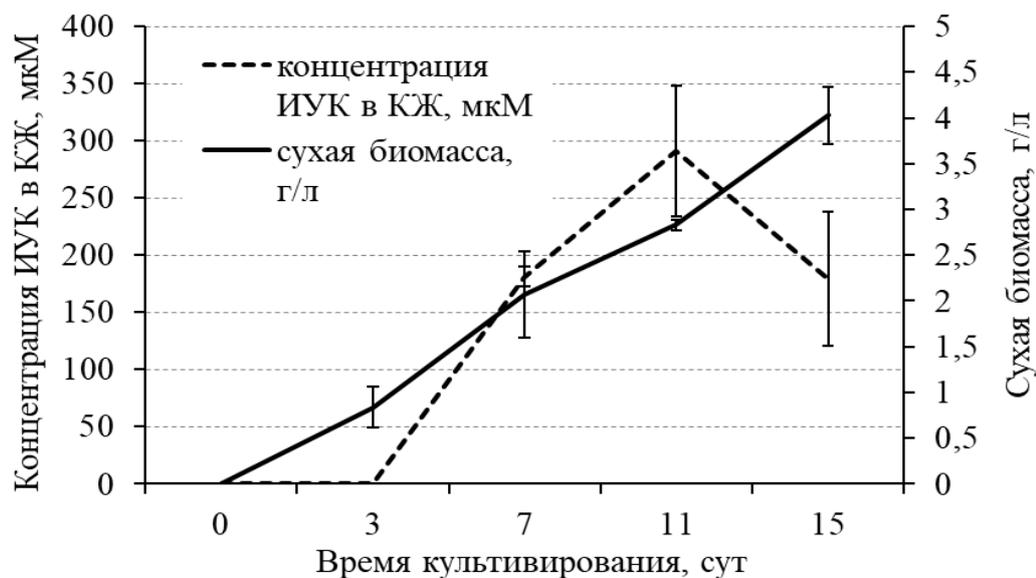


Рисунок 4. Накопление биомассы *T. atroviride* и ИУК в КЖ

Ферментативная активность комплекса *T. atroviride* К-01П и *A. chroococcum* РП-22

При культивировании на среде Гетчинсона с фильтровальной бумагой деструкционная активность *T. atroviride* К-01П усиливалась в присутствии *A. chroococcum* РП-22. Комплекс *T. atroviride* К-01П + *A. chroococcum* РП-22 (ТА) вызывал более интенсивную солубилизацию фосфатов в сравнении с монокультурой *T. atroviride* (табл. 1).

Таблица 1. Ферментативная активность *T. atroviride* и его комплекса с *A. chroococcum*

Вариант	Деструкция целлюлозы, 21 сут. Снижение массы фильтра, %	Фосфатсолубилизация, 11 сут.		
		рН	Концентрация в КЖ, мг/мл	
			Белок	Монофосфат-ионы*
Среда без азота				
Контроль	0,0	7,58±0,05	н. п.	0,039±0,003
<i>T</i>	0,0	7,70±0,05	0,072±0,010	0,059±0,003
<i>ТА</i>	3,09±0,43	6,76±0,15	0,164±0,053	0,107±0,007
Среда с азотом				
Контроль	0,0	7,60±0,05	н. п.	0,044±0,005
<i>T</i>	7,97±0,95	7,51±0,05	0,234±0,026	0,072±0,005
<i>ТА</i>	9,39±0,56	6,74±0,25	0,284±0,009	0,123±0,003

T – *T. atroviride*, *A* – *A. chroococcum*, н. п. – ниже предела обнаружения.

*Совокупность ионов $H_2PO_4^-$, HPO_4^{2-} и PO_4^{3-} ; «±» – стандартное отклонение

Оптимизация культивирования *T. atroviride* К-01П

Бобовый агар (БА) на основе *Pisum sativum* L. оказался подходящим для культивирования *Trichoderma* spp. (Стариков, Домрачева, Скугорева, 2022). На БА *T. atroviride* продуцировал максимальное количество конидий (табл. 2).

Таблица 2. Влияние вида питательной среды на рост *T. atroviride*

Питательная среда	Диаметр колонии (72 ч роста), мм	Линейная скорость роста (по диаметру), мм/сут.	Продуктивность, кон./см ²
КГА	101±1	45±2	3,2±0,3·10 ⁷
БА	92±3	41±1	4,9±0,3·10⁷
Чапека	82±1	38±0	2,2±0,2·10 ⁷

«±» – стандартное отклонение

Влияние микробной инокуляции семян пшеницы на биологическую активность ризосферной почвы и биохимические показатели растений

Инокуляция комплексом *T. atroviride* + *A. chroococcum* + *F. muscicola* (ТАФ) увеличивает потенциальную активность азотфиксации на 52,1–73,8% и актуальную и потенциальную эмиссию CO₂ на 23,2 и 15,4% (табл. 3).

Таблица 3. Влияние предпосевной инокуляции семян пшеницы на активность азотфиксации и эмиссию CO₂ из ризосферной почвы

Вариант	Азотфиксация, нг C ₂ H ₄ /(г сут.)		Эмиссия CO ₂ , мкг CO ₂ /(г сут.)	
	Актуальная	Потенциальная	Актуальная	Потенциальная
Контроль	1,6±0,5	874±138	32,4±3,9	463,9±23,3
«Максим»	2,0±0,7	1050±257	30,9±4,7	467,1±29,2
<i>T</i>	1,7±0,5	987±129	27,7±2,8*	435,5±21,4*
<i>TF</i>	1,8±0,5	1329±187*	31,2±3,1	504,1±26,3*
<i>TA</i>	1,6±0,4	1391±125*	33,3±5,2	506,3±16,3*
<i>TAF</i>	1,6±0,3	1519±304*	40,0±6,7*	535,5±31,5*

T – *T. atroviride*, *F* – *F. muscicola*, *A* – *A. chroococcum*; «±» – стандартное отклонение

В случае инокуляции семян *T. atroviride* и комплексами *T. atroviride* + *F. muscicola* (TF), TA и TAF на 21,5–30,3% уменьшается окислительный стресс растений. Положительное действие TF и TAF на пшеницу выразилось и в возрастании пула пигментов фотосинтеза на 12,5–18,0%. Различия в соотношении хлорофиллов *a* и *b* оказались статистически незначимыми. Инокулянт TAF расширяет метаболический потенциал микробного сообщества

ризосферы: увеличивается число потребляемых субстратов (табл. 4) и на 34% возрастает потребление олигосахаров. Инокуляция *T. atroviride* увеличивает потребление азотсодержащих компонентов в ризосфере в 3,4 раза к контролю.

Таблица 4. Параметры функционального разнообразия и потенциальной метаболической активности микробных сообществ в ризосфере пшеницы

Вариант	Параметр функционального состояния микробного сообщества				
	<i>d</i>	<i>N</i>	<i>W</i>	<i>E</i>	<i>H</i>
Контроль	0,416*	42	1746	0,984	5,30
«Максим»	0,707	45	1673	0,981	5,39
<i>T</i>	0,680	44	1647	0,976	5,33
<i>TF</i>	0,473	42	1760	0,979	5,27
<i>TA</i>	0,503	42	1664	0,981	5,29
<i>TAF</i>	0,877	47	1697	0,966	5,36

* В таблице приведены средние значения показателей; *d* – коэффициент устойчивости микробных сообществ, *N* – количество потребляемых субстратов, *W* – метаболическая активность, *E* – выровненность, *H* – индекс Шеннона

Биоконтрольные свойства комплексов *T. atroviride* К-01П и бактерий-диазотрофов

В условиях почвы самым сильным противобуриозным действием обладают ТАФ и ТФ, снижающие развития корневых гнилей у проростков в 4,12–4,97 раза относительно фона без внесения антагонистов (рис. 5).

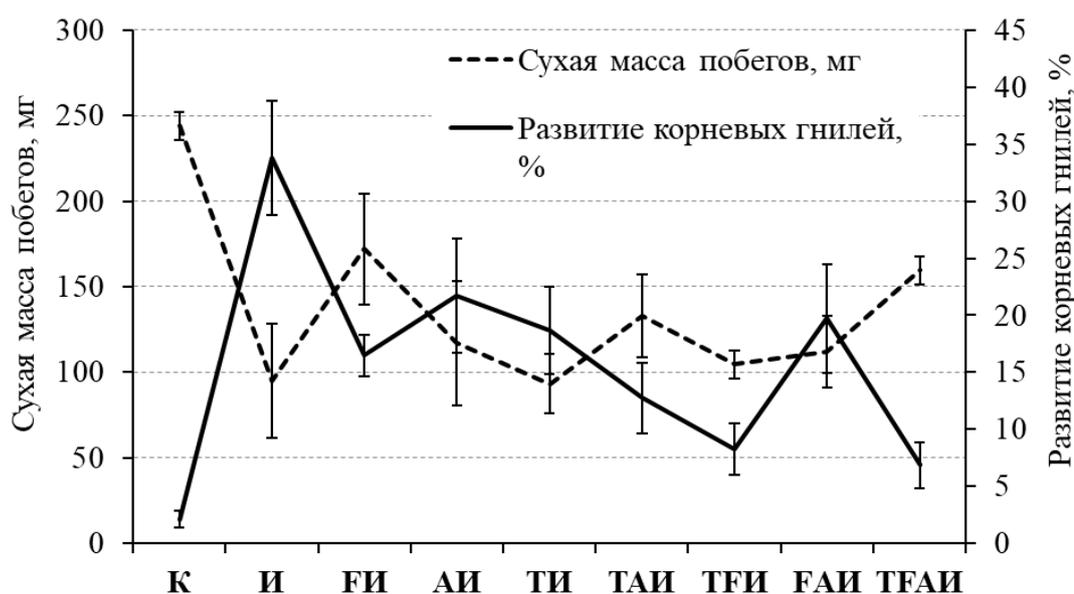


Рисунок 5. Степень развития корневых гнилей ($НСР_{0,95} = 1,549$) и сухая масса побегов ($НСР_{0,95} = 43,935$). И – *F. culmorum*; А – *A. chroococcum*; Т – *T. atroviride*; F – *F. muscicola*.

Под действием ТАФ на инфекционном фоне возрастает сухая масса побегов до 72,9%. Коэффициент корреляции между развитием корневых гнилей и общей массой побегов составил $r = -0,69$ (при $p \geq 0,95$), что соответствует сильной отрицательной связи.

Эффективность микробных инокулянтов в полевых опытах при выращивании пшеницы

Данные полевых испытаний свидетельствуют о существенном влиянии климатических факторов на свойства *T. atroviride* К-01П и *F. muscicola* 300. (рис. 6). ЦБ *F. muscicola* 300 достоверно к контролю снижала (на 28–48%) развитие корневых гнилей в оба года исследований. Антагонистические свойства *T. atroviride* К-01П наиболее явно проявились в 2023 г. с экстремальными погодными условиями. В 2023 г. монокультуры *T. atroviride* К-01П и *F. muscicola* 300 не уступали по биоконтролю ТФ. Комплекс ТФ в условиях искусственного инфекционного фона показал более высокую эффективность по сравнению с монокультурами этих штаммов в 2022 и 2023 гг.

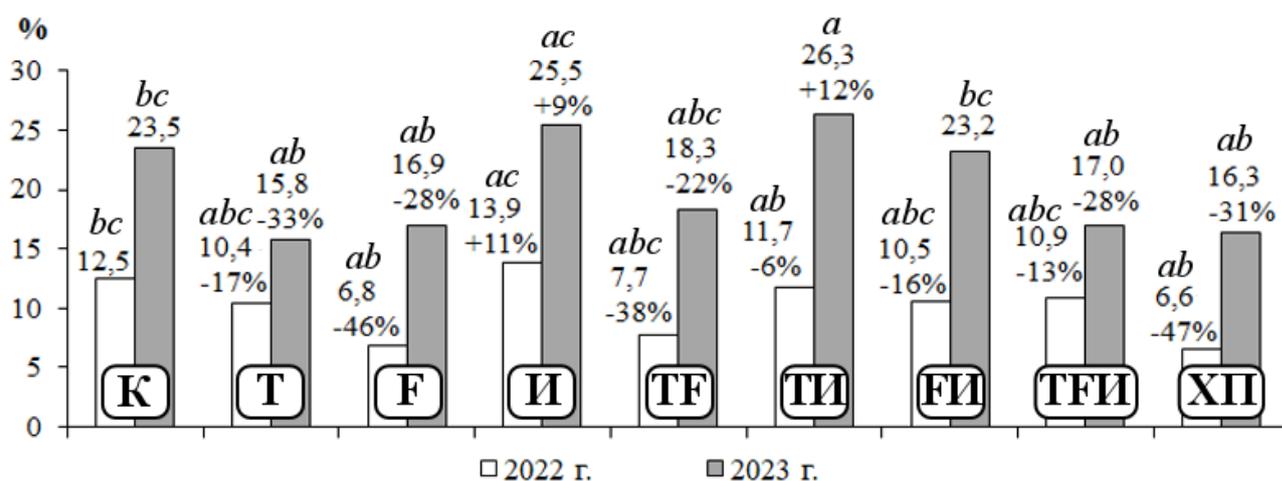


Рисунок 6. Влияние предпосевной обработки на развитие корневых гнилей (%),

НСР_{0,95}: 2022 г. – 0,8; 2023 г. – 1,5. К – контроль, Т – *T. atroviride*, Ф – *F. muscicola*, И – *F. culmorum*, ХП – химический препарат («Максим»); *a* – значимое отличие от контроля К; *b* – значимое отличие от отрицательного контроля И; *c* – значимое отличие от эталонного варианта ХП. В процентах – различия показателей с контролем (К)

Максимальные прибавки урожайности 2022–23 гг. получены при обработке семян *T. atroviride* К-01П (+17 и +39%) и протравливании их препаратом «Максим» (+18 и +27%). В условиях 2023 г. инокуляция семян *F. muscicola* 300 обеспечила высокую урожайность на уровне фунгицида (+32%). В 2023 г. урожайность пшеницы возрастала при коинокуляции ТФ в условиях искусственного заражения фитопатогеном на 32% в сравнении с отрицательным контролем (*F. culmorum*) (рис. 7). В 2022 г. урожайность возрастала при применении ТФ (+14%) и при инокуляции *T. atroviride* К-01П на фоне *F. culmorum* (+18%) (рис. 7).

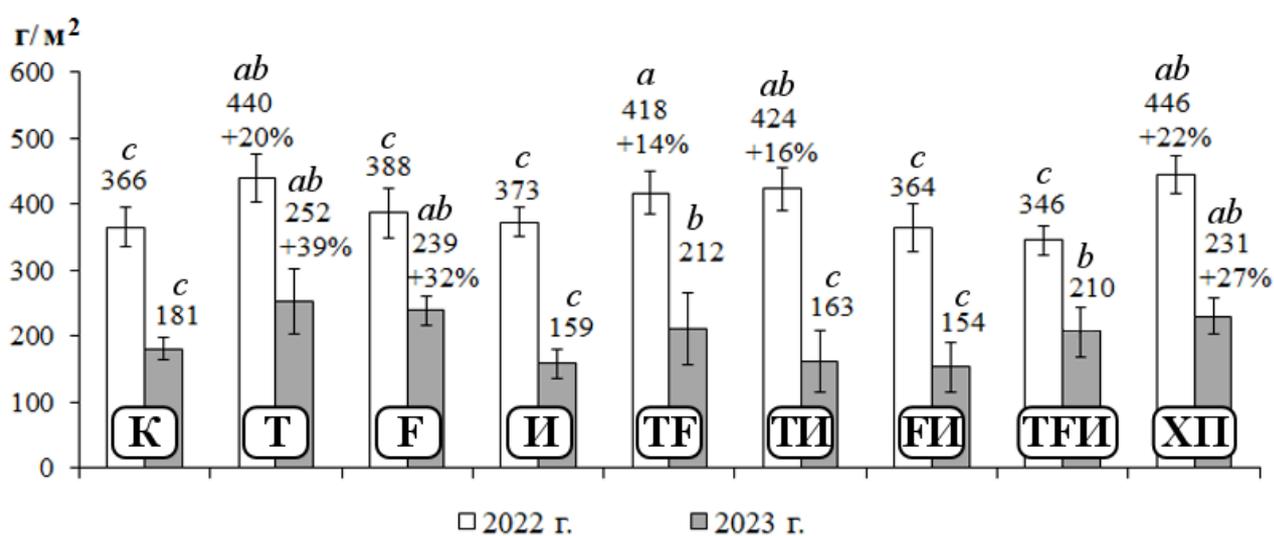


Рисунок 7. Влияние предпосевной обработки на урожайность (г/м²), НСР_{0,95}: 2022 г. – 49,9; 2023 г. – 32,1. К – контроль, Т – *T. atroviride*, F – *F. muscicola*, И – *F. culmorum*, ХП – химический препарат («Максим»); a – значимое отличие от контроля К; b – значимое отличие от отрицательного контроля И; c – значимое отличие от эталонного варианта ХП. В процентах – различия показателей с контролем (К)

Оценка экологической безопасности штаммов *T. atroviride* К-01П и *F. muscicola* 300

Аборигенная микробиота прикорневой зоны пшеницы. В опыте учитывали численность микромицетов и бактерий-аммонификаторов, которые являются ключевыми участниками трансформации органического вещества

почвы. Результаты количественного учёта свидетельствуют об отсутствии негативного воздействия *T. atroviride* К-01П и *F. muscicola* 300 на популяцию этих микробных групп в разные по условиям вегетации годы (рис. 8).

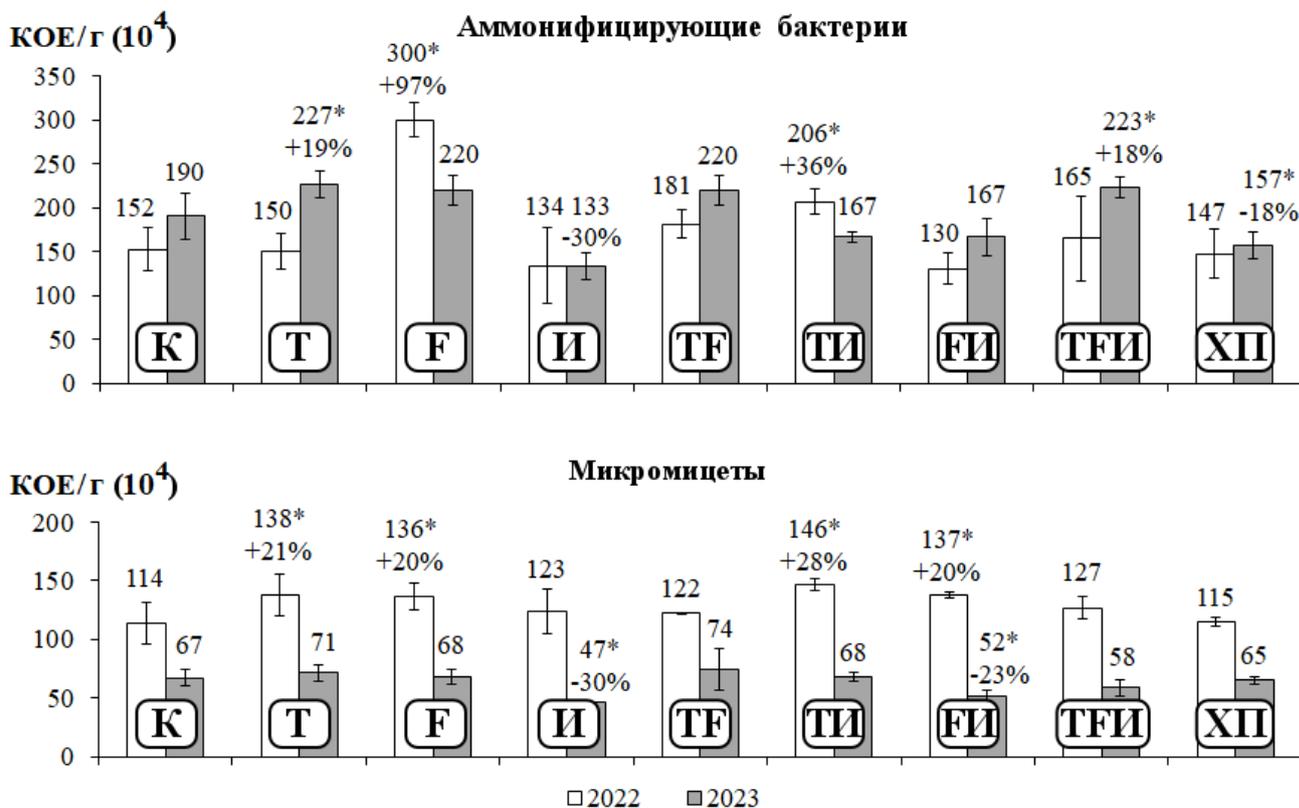


Рисунок 8. Численность бактерий-аммонификаторов и микромицетов в прикорневой зоне, КОЕ/г абсолютно сухой почвы: К – контроль, Т – *T. atroviride*, F – *F. muscicola*, И – *F. culmorum*, XII – химический препарат («Максим»). В процентах – различия показателей с контролем

Фототрофная наземная микробиота под посевами пшеницы. Альгоцианофлора «цветущей» почвы (2023 г.) была представлена 24 видами, включая Cyanobacteria – 7; Chlorophyta + Streptophyta – 12; Bacillariophyta – 5. При «цветении» почвы доминировали зелёные водоросли (*Chlorococcum infusionum*, *Klebsormidium flaccidum*) и ЦБ (виды родов *Leptolyngbya*, *Phormidium*). Минимальная плотность популяции фототрофов обнаружена в варианте с препаратом «Максим» на основе флудиоксонила (табл. 5). Следовательно, в отличие от химического фунгицида, микробная инокуляция

не приводит к столь радикальным сдвигам в состоянии наземных фототрофных микробных сообществ.

Таблица 5. Влияние микробов-интродуцентов на численность водорослей и ЦБ в поверхностных разрастаниях в сравнении с химическим препаратом

Вариант	Водоросли, кл./см ² (10 ³)/ % от всех фототрофов			ЦБ, кл./см ² (10 ³) / % от всех фототрофов	Всего, кл./см ² (10 ³)
	зелёные одноклеточные	зелёные нитчатые	диатомовые		
К	930±200 / 11,5	3000±300 / 37,0	300±15 / 3,7	3870±150 / 47,8	8100±665
Т	1100±100 / 22,1	1230±30 / 24,7	270±50 / 5,4	2370±230 / 46,7	4970±660
F	830±25 / 16,3	1270±200 / 24,9	267±5 / 5,2	2730±500 / 59,9	5097±730
И	760±150 / 14,6	170±10 / 3,3	100±0 / 19,2	4170±160 / 80,2	5200±320
TF	700±120 / 13,6	1230±150 / 23,8	230±50 / 44,6	3000±140 / 58,1	5160±460
ТИ	630±100 / 14,3	1230±13 / 27,8	230±15 / 5,2	2730±250 / 55,0	4420±495
ФИ	930±150 / 24,8	760±16 / 20,3	130±15 / 3,5	1931±200 / 51,5	3751±525
ТФИ	640±50 / 10,5	2800±400 / 46,1	100±0 / 16,5	2530±250 / 41,7	6070±700
XII	470±100 / 26,0	470±40 / 26,0	100±0 / 5,5	770±150 / 42,5	1810±350

К – контроль, Т – *T. atroviride*, F – *F. muscicola*, И – *F. culmorum*, XII – химический препарат («Максим»); «±» – стандартное отклонение

Эколого-токсикологические исследования. ФЖК *T. atroviride* К-01П (разбавление 1:100) и *F. muscicola* 300 (разбавление 1:10 и 1:100) не проявили острой токсичности на «Эколюм» и *D. magna* (табл. 6). ФЖК *T. atroviride* в 10-кратном разбавлении вызывал гибель рачков. С учётом этого необходимо нормирование внесения в экосистемы препаратов данного штамма.

Таблица 6. Результаты биотестирования ФЖК *T. atroviride* и *F. muscicola* на препарате «Эколюм» и на *D. magna*

Культура	Индекс токсичности (тест на «Эколюм»)				Количество выживших дафний, % / Активность дафний	
	Разбавление фильтрата КЖ					
	1:100	1:50	1:10	неразб.	1:100	1:10
<i>T. atroviride</i>	-229,18	-268,39	-555,64	1642,81	100/А	0/-
<i>F. muscicola</i>	-127,20	-100,49	-116,14	-169,38	100/А	100/А

В таблице указаны средние значения показателей. Отрицательные значения свидетельствуют об отсутствии токсического действия. А – особи активны, Н – особи неактивны.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на длительность использования грибов рода *Trichoderma* в сельскохозяйственной практике, остаётся актуальным поиск аборигенных штаммов этих микромицетов и их комплексов с другими микроорганизмами, которые приспособлены к агроклиматическим условиям конкретного региона. С этой целью штаммы *Trichoderma* spp. выделяли из различных экониш г. Кирова и его окрестностей. Первичный скрининг антифунгальных свойств 26 исследованных изолятов выявил штамм *T. atroviride* К-01П с наибольшей активностью против различных фитопатогенов. Этот штамм был отобран для дальнейших исследований, в рамках которых показана его биологическая совместимость с азотфиксирующими бактериями, широко использующимися в современном сельском хозяйстве.

В частности, удалось доказать, что комплекс *T. atroviride* К-01П и *A. chroococcum* РП-22 обладает фитостимулирующими свойствами в отношении проростков горчицы белой и клевера паннонского, что отразилось в увеличении индекса роста (ИР) на 18,2 и 34,7% соответственно. В случае клевера наилучшие ростовые показатели были достигнуты при инокуляции семян комплексом *T. atroviride* К-01П + *A. chroococcum* РП-22 + *F. muscicola* 300 + *R. leguminosarum* 348a (увеличение ИР на 40,5%). В рамках исследования целлюлазной и фосфатсольюбилизирующей способности *T. atroviride* К-01П было доказано, что в составе комплекса с *A. chroococcum* РП-22 эта активность значительно возрастает, что особенно сильно проявляется при культивировании штаммов на безазотистых средах.

В условиях *in vitro* выявлена способность искусственных комплексов на основе *T. atroviride* К-01П, *F. muscicola* 300 и *A. chroococcum* РП-22 к более интенсивному снижению развития корневых гнилей и улучшению ростовых показателей проростков пшеницы при инфицировании почвы *F. culmorum* Р/з-16 по сравнению с использованием их монокультур. Определена способность комплексов *T. atroviride* К-01П с *A. chroococcum* РП-22 и *F. muscicola* 300 увеличивать интенсивность протекания в почве ризосферы пшеницы

азотфиксации и эмиссии CO₂. Результаты мультисубстратного тестирования свидетельствуют о способности комплекса *T. atroviride* К-01П + *A. chroococcum* РП-22 + *F. muscicola* 300 к расширению метаболических возможностей ризосферного микробиома.

При возделывании в мелкоделяночном опыте пшеницы (2022–2023 гг.), семена которой инокулировали комплексом *T. atroviride* К-01П + *F. muscicola* 300, отметили высокие прибавки урожайности (на уровне действия химического препарата «Максим»), а также улучшение фитосанитарного состояния посевов, в том числе на искусственном инфекционном фоне. Доказано, что *T. atroviride* К-01П и *F. muscicola* 300 при их интродукции в почву не снижают численность аборигенных микромицетов и бактерий-аммонификаторов прикорневой зоны, играющих важную роль в процессах трансформации органического вещества в почве. Кроме того, при инокуляции *T. atroviride* К-01П и *F. muscicola* 300, в отличие от применения химического фунгицида, сохраняется биоразнообразие микрофототрофов и не происходит существенного падения их численности в почве под посевами пшеницы. Исследования токсичности фильтратов жидких культур *T. atroviride* К-01П (разбавление 1:100) и *F. muscicola* 300 (разбавление 1:10 и 1:100) в отношении стандартных тест-систем «Эколюм» и *D. magna* подтвердили их экологическую безопасность.

Таким образом, результаты исследования потенциала использования *T. atroviride* К-01П в комплексе с бактериями-азотфиксаторами *F. muscicola* 300, *A. chroococcum* РП-22 и *R. leguminosarum* 348a расширяют представления об агрономически ценных свойствах данных микроорганизмов и открывают перспективу создания на их основе биопрепаратов комплексного действия.

ВЫВОДЫ

1. Созданы комплексы на основе почвенного штамма-антагониста *Trichoderma atroviride* К-01П и diaзотрофов *F. muscicola* 300, *A. chroococcum* РП-22 и *R. leguminosarum* 348a, перспективные для разработки

комбинированных полифункциональных биопрепаратов для сельского хозяйства.

2. Доказано усиление фитостимулирующих свойств и ферментативной активности инокулянтов на основе *T. atroviride* К-01П, *F. muscicola* 300, *A. chroococcum* РП-22 и *R. leguminosarum* 348 при использовании их в виде микробных комплексов.

3. Выявлена способность искусственных комплексов на основе *T. atroviride* К-01П, *F. muscicola* 300 и *A. chroococcum* РП-22 к более значительному снижению развития корневых гнилей у проростков пшеницы по сравнению с их монокультурами, к повышению пула пигментов фотосинтеза, а также увеличению эмиссии углекислого газа и активности азотфиксации в ризосферной почве.

4. Предпосевная инокуляция семян мягкой пшеницы монокультурами *T. atroviride* К-01П и *F. muscicola* 300 и их комплексом приводит к повышению урожайности растений и снижению развития корневых гнилей в мелкоделяночных опытах на уровне, сопоставимом с действием химического фунгицида «Максим».

5. Экологическая безопасность инокулянтов *T. atroviride* К-01П и *F. muscicola* 300 подтверждается отсутствием их негативного влияния на популяции аборигенных почвенных микрофототрофов, микромицетов и бактерий-аммонификаторов, также результатами токсикологической оценки их метаболитов на живых тест-системах (*E. coli* и *D. magna*).

**Статьи, опубликованные в изданиях, рекомендованных для защиты
в диссертационном совете МГУ имени М.В.Ломоносова
по специальностям и отрасли наук:**

1. **Стариков П.А.,** Домрачева Л.И., Скугорева С.Г. Сравнительная оценка питательных сред для культивирования микромицетов рода *Trichoderma* // Теоретическая и прикладная экология. – 2022. – № 1. – С. 44–49. EDN: INQMF1 (Импакт-фактор 0,5 (JIF)). Вклад автора в печатных листах: (0,50/0,40)

(Здесь и далее в скобках приведён объём публикаций в печатных листах и вклад автора в печатных листах).

2. Шешегова Т.К., Щеклеина Л.М., **Стариков П.А.** Влияние микробной инокуляции семян на биоконтроль корневых гнилей, биометрию растений и урожайность яровой пшеницы // Таврический вестник аграрной науки. – 2024. – Т. 37, № 1. — С. 187–197. EDN: VRNNTW (Импакт-фактор 0,712 (РИНЦ)). (0,69/0,35)

3. Кондакова Л.В., **Стариков П.А.**, Домрачева Л.И. Специфика фототрофных наземных микробных комплексов в посевах пшеницы // Теоретическая и прикладная экология. – 2024. – № 3. – С. 115–122. EDN: FRYDAM (Импакт-фактор 0,5 (JIF)). (0,50/0,25)

4. **Стариков П.А.**, Домрачева Л.И., Фокина А.И., Олькова А.С., Ахмедов Г.Р., Степанов П.Д., Киреева А.Р. Возможные пути применения консортивных связей нового штамма *Trichoderma atroviride* с азотфиксаторами в агробиотехнологии // Теоретическая и прикладная экология. – 2025. – № 1. – С. 140–150. EDN: EMHNJO (Импакт-фактор 0,5 (JIF)). (0,88/0,70)

5. **Стариков П.А.**, Костина Н.В., Домрачева Л.И., Фокина А.И., Горленко М.В., Киреева А.Р. Влияние микробной инокуляции семян пшеницы на биологическую активность ризосферной почвы и биохимические показатели растений // Проблемы агрохимии и экологии. – 2025. – № 3. – С. 11–16. EDN: PBIRSO (Импакт-фактор 0,339 (РИНЦ)). (0,38/0,30)

6. **Стариков П.А.**, Олькова А.С., Шешегова Т.К., Щеклеина Л.М., Степанов П.Д. Изучение биоконтрольных свойств комплексов микромицета *Trichoderma atroviride* и diaзотрофов, оценка их экологической безопасности // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. – 2025. – Т. 26, № 6. – С. 1309–1319. EDN: MDTHGL (Импакт-фактор 1,229 (РИНЦ)). (0,69/0,60)

7. Домрачева Л.И., **Стариков П.А.**, Ковина А.Л., Ашихмина Т.Я. Использование микромицетов рода *Trichoderma* и консорциумов на их основе в агробиотехнологии (обзор) // Теоретическая и прикладная экология. – 2024. – № 1. – С. 6–18. EDN JAUPNA (Импакт-фактор 0,5 (JIF)). (0,45/0,81)