

УДК 634.11: 632.937: 632.4

**ПОЛЕВОЙ СКРИНИНГ ШТАММОВ РОДА *TRICHODERMA*  
ДЛЯ ЗАЩИТЫ ЯБЛОНИ ОТ ПАРШИ****Якуба Г.В.**, канд. биол. наукФедеральное государственное бюджетное научное учреждение «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия»  
(Краснодар)**Ярошенко В.А.**, канд. биол. наук

ООО «Биотехагро» (Тимашевск, Краснодарский край)

**Реферат.** Приведены результаты оценки в полевых условиях антагонистичных по отношению к *Venturia inaequalis* (Ске.) Wint. четырех штаммов грибов рода *Trichoderma*. Показано, что на восприимчивых к парше сортах в условиях эпифитотии биологическая эффективность штаммов варьирует от 79,5 до 99,9 % в зависимости от степени активности штамма и величины показателей распространения и интенсивности развития болезни.

**Ключевые слова:** яблоня, парша, биометод, микроорганизмы, штаммы, эффективность

**Summary.** The results of the assessment in the field conditions of four fungi strains of the genus *Trichoderma* antagonistic to *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint. are presented. It has been shown that the biological efficiency of strains varies from 79.5 to 99.9 % in susceptible to scab varieties under epiphytotoy conditions, depending on the degree of the strain activity and the magnitude of the spread and the intensity of disease development.

**Key words:** apple-tree, scab, biomethod, microorganisms, strains, efficiency

**Введение.** Использование для защиты сельскохозяйственных культур микроорганизмов-антагонистов является приоритетным направлением в защите растений. На яблоне, основной садовой культуре, применение биометода против группы доминирующих микозов за последнее десятилетие активизировалось. Это связано как с некоторым расширением ассортимента разрешенных для применения на яблоне биофунгицидов, так и с возможностью снижения затрат на средства защиты. Но главной причиной, на наш взгляд, является отмечаемое снижение эффективности химических фунгицидов, являющееся следствием развития к ним резистентности у фитопатогенов. Особенно заметен этот эффект на деревьях, поврежденных и (или) подвергающихся воздействию комплекса стресс-факторов. Доказано, что современные химические фунгициды, как правило, не обеспечивают полного подавления фитопатогенов, поскольку под их действием из биоценоза элиминируются и чувствительные к фунгицидам микромицеты-сапротрофы – конкуренты возбудителей заболеваний [1].

На семечковых плодовых культурах, как и на большинстве сельскохозяйственных растений, в качестве агентов биологической защиты широкое распространение получило применение бактерий-антагонистов. Наиболее широко применяются различные штаммы *Bacillus subtilis*. Для некоторых из них выявлено не только подавляющее, но и повреждающее воздействие на морфологию инфекционных структур патогенов, в частности возбудителя парши груши [2]. Выявлены штаммы бактерий *B. amyloliquefacies*, *B. pumilis*, *B. methyloprophics*, *Brevibacterum halotolerans*, активные против достаточно широкого спектра микопатогенов яблони [3]. В настоящее время все большую актуальность приобретает использование для защиты от возбудителей заболеваний грибов рода *Trichoderma*. Эти грибы являются паразитами на широком круге фитопатогенных грибов, над прямым паразитированием преобладает антагонизм за счет выделения при этом комплекса метаболитов:

антибиотики (виридин, глиотоксин и др.), гидролитические ферменты (хитиназы, глюканазы, протеазы) и др. вещества, разрушающие клеточные стенки фитопатогенов и подавляющие их жизнедеятельность [4, 5, 6]. В «Справочник пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации» для борьбы с заболеваниями, включены содержащие грибы *Trichoderma harzianum* препараты Стернифаг, СП (титр  $10^{10}$  КОЕ/г, штамм ВКМ F-4099D), Глиокладин в различных препаративных формах (штамм 18 ВИЗР), Трихоцин, СП (титр  $10^{10}$  КОЕ/г, штамм Г 30 ВИЗР), однако для применения на яблоне они не зарегистрированы.

Нашими предшествующими исследованиями была показана перспективность использования штаммов *Trichoderma* в контроле доминирующего заболевания яблони – парши *Venturia inaequalis* (Ске.) Wint. в условиях Северного Кавказа [7, 8]. Для повышения эффективности и экологической безопасности защитных мероприятий при производстве плодов яблони необходимы дальнейшие исследования по отбору наиболее пригодных агентов биологической регуляции плотности популяций фитопатогенов. Оценить эффективность штаммов микроорганизмов можно на этапе скрининга в полевых условиях.

Целью настоящего исследования являлось изучение активности новых аборигенных штаммов грибов рода *Trichoderma* по отношению к возбудителю парши яблони.

**Объекты и методы исследований.** Объектами исследований являлись штаммы микроорганизмов из коллекции ООО «Биотехагро» (Краснодар): три штамма *Trichoderma viride* и один штамм *T. harzianum*, проявившие *in vitro* антагонистическую активность в отношении возбудителя парши яблони.

Изучение поведения штаммов в полевых условиях проведено методом постановки мелкоделяночного и широкого полевого опытов в центральной подзоне прикубанской зоны Краснодарского края. Используются общепринятые методы [9, 10], а также методики, разработанные научным центром защиты и биотехнологии растений СКЗНИИСиВ [11, 12].

Мелкоделяночный опыт проведен в 2015 г. в ЗАО ОПХ «Центральное» (Краснодар) в насаждениях сорта Айдаред позднего срока созревания, 2001 г. посадки, схема посадки 5x2 м, высота деревьев 1,5-2 м, подвой М 9. Сорт – высоковосприимчивый к парше. С 13.04 по 20.07 на вариантах опыта (исключая контроль) проводили фоновые обработки – чередование фунгицидов химического происхождения. Даты применения биоагентов: 31.07; 12.08; 28.08, стадии развития яблони в эти сроки – 77-83 по шкале ВВСН. Норма расхода культуральной жидкости испытуемых штаммов – 5,0 л/га. В качестве стандартного варианта использован биофунгицид Фитоспорин-М, Ж, действующее начало *Bacillus subtilis*, штамм 26Д (титр не менее 1 млрд живых клеток и спор/мл) с нормой расхода 2,0 л/га. Расход рабочей жидкости 1000 л/га, повторность четырехкратная.

Широкий полевой опыт был поставлен в 2016 г. в АО «Виктория-92» Динского района на сорте Ренет Симиренко позднего срока созревания, высоковосприимчивом к парше, 2007 г. посадки, схема посадки 4x1 м, высота деревьев 2-2,5 м. С 17.04 по 29.08 на вариантах опыта (исключая контроль) проводили обработки фунгицидами химического происхождения. Даты применения биоагентов – 29.08 и 08.09, стадии развития яблони в эти сроки – 78-85 по шкале ВВСН. Норма расхода культуральной жидкости каждого из испытуемых штаммов – 5,0 л/га. Стандартом служил биофунгицид Алирин-Б, Ж, действующее начало *Bacillus subtilis*, штамм В-10 ВИЗР (титр не менее  $10^9$  КОЕ/г) с нормой расхода 5,0 л/га. Расход рабочей жидкости 1000 л/га, повторность трехкратная.

**Обсуждение результатов.** В мелкоделяночном полевом опыте на опытном участке в вегетацию 2015 г. имела место тардивная эпифитотия парши. На контрольных деревьях к середине июня распространение болезни на листьях составило около 20 %, интенсивность их поражения – более 13%. На плодах первое проявление было зафиксировано достаточно

поздно. Однако пораженность и интенсивность поражения сразу были высокими, в результате чего в течение шести суток сильно пораженные плоды осыпались. Далее развитие болезни на плодах имело высокую скорость: в течение семи суток (с 01.06 по 08.06) количество пораженных плодов и интенсивность поражения возросли вдвое. Во второй половине вегетации отмечалась тенденция устойчивого нарастания поражения листьев и плодов. Перед началом испытаний на контрольных деревьях было поражено более трети листового аппарата и около трети плодов. В период испытания штаммов (с 31.07 по 07.09) количество пораженных листьев возросло на 23,8 %, интенсивность их поражения – на 23,4 %, число пораженных плодов увеличилось на 28,9 %, интенсивность развития болезни – на 16,3 %. К уборке урожая заболеванием было поражено около 60 % листьев и столько же плодов.

Испытания были начаты на деревьях с одинаковым распространением и интенсивностью развития парши. Изучение фунгицидной активности штаммов микроорганизмов против возбудителя парши яблони показало следующее (табл. 1).

Таблица 1 – Биологическая эффективность штаммов *Trichoderma* ООО «Биотехагро» против парши на яблоне, сорт Айдаред, 2015 г., (ЗАО ОПХ «Центральное», Краснодар)

Вариант	Дата учета											
	31.07 – перед 1-й обработкой			12.08 – на 12-е сутки после 1-й обработки			28.08 – на 16-е сутки после 2-й обработки			07.09 – на 10-е сутки после 3-й обработки, съем урожая		
	P, %	R, %	БЭ, %	P, %	R, %	БЭ, %	P, %	R, %	БЭ, %	P, %	R, %	БЭ, %
листья												
<i>T. v.</i> № 1 – 5,0 л/га	5,80	2,60	87,7	6,00	3,10	88,7	7,00	2,85	91,3	6,00	2,40	94,6
<i>T. h. F</i> № 2 – 5,0 л/га	5,80	2,60	87,7	6,00	3,20	88,4	9,40	4,17	87,3	8,90	3,89	91,3
<i>T. v.</i> № 3 – 5,0 л/га	5,80	2,60	87,7	5,20	2,57	90,7	7,20	3,35	89,8	6,90	3,10	93,7
<i>T. v.</i> № 4 – 5,0 л/га	5,80	2,60	87,7	7,70	4,73	82,8	12,50	6,71	79,5	11,7 0	6,19	86,1
Фитоспорин-М 2,0 л/га	5,80	2,60	87,7	3,70	2,20	92,0	3,10	1,54	95,3	3,20	1,47	96,7
Контроль	35,60	21,20	-	46,30	27,55	-	54,00	32,80	-	59,40	44,60	-
плоды												
<i>T. v.</i> № 1 – 5,0 л/га	2,80	0,70	95,1	3,30	1,10	93,6	4,00	1,20	95,3	2,40	1,00	96,7
<i>T. h. F</i> № 2 – 5,0 л/га	2,80	0,70	95,1	3,50	1,10	93,6	3,80	1,30	94,9	3,80	1,30	95,8
<i>T. v.</i> № 3 – 5,0 л/га	2,80	0,70	95,1	2,50	0,70	95,9	2,80	0,80	96,8	2,40	0,9 0	97,1
<i>T. v.</i> № 4 – 5,0 л/га	2,80	0,70	95,1	4,00	1,50	91,2	5,50	1,60	93,7	7,00	2,30	92,5
Фитоспорин-М 2,0 л/га	2,80	0,70	95,1	2,30	0,60	96,5	2,30	0,60	97,6	2,00	0,60	98,0
Контроль	30,30	14,30	-	36,30	17,10	-	49,50	25,30	-	59,20	30,60	-

Условные обозначения: P – распространение болезни, %; R – интенсивность развития болезни, %; БЭ – биологическая эффективность, %.

Штамм *T. viride* № 1 блокировал заболевание паршой на листьях и плодах только после третьего применения биопрепарата. В этот срок эффективность его защиты соответствовала эффективности стандарта.

Штамм *T. harzianum* № 2 недостаточно активно сдерживал распространение и развитие парши: даже после двукратного применения эти показатели на деревьях варианта продолжали увеличиваться. Данный биоагент показал сдерживание болезни только после применения блока из трех обработок, к съему урожая он лишь незначительно уступил Фитоспорину-М.

У штамма *T. viride* № 3 высокая эффективность защиты была получена уже после первого применения: он заблокировал развитие парши на листьях и плодах. После третьего его применения распространение и интенсивность развития парши на деревьях варианта также снизились. По результатам каждой из трех обработок штамм показал лучшую из испытанных вариантов эффективность, близкую к эффективности стандартного варианта.

У штамма *T. viride* № 4 была получена самая низкая эффективность защиты листьев в сравнении с другими испытываемыми штаммами (исключая стандарт): на 5,6-7,9 % ниже после первого применения, на 7,8-11,8 % ниже после второго, на 5,2-13,1 % ниже после третьей обработки. Блокирование парши было достигнуто только после третьей последовательной обработки. В защите плодов также были получены наименьшие показатели эффективности, однако разница в биологической эффективности с другими испытываемыми штаммами была несущественной.

Таким образом, все штаммы показали наличие эффективности против парши в полевых условиях при эпифитотии болезни. Период защитного действия штаммов составил 10 суток. При интервале между обработками 14 суток (между первым и вторым применением) эффективность у всех штаммов снижалась.

В полевом производственном опыте в 2016 г. были продолжены испытания, начатые в 2015 г. [8]. На опытном участке было отмечено два периода наиболее высокой скорости инфекции: с 15 по 22 мая – в контроле количество пораженных плодов и интенсивность их поражения возросли в 3,1 раза и с 22 по 30 мая – распространение и интенсивность развития парши возросли в 3 раза. Таким образом, с первой декады июня развитие болезни на контрольных деревьях характеризовалось как эксплозивная эпифитотия.

Обработки культуральной жидкостью штаммов *Trichoderma* были включены в системы защиты в условиях непрерывного нарастания пораженности паршой контрольных деревьев. Так, с 25.08 по 08.09 (в течение 11 суток) на контрольных деревьях количество пораженных листьев возросло на 10,0 %, количество пораженных плодов – на 6,2 %.

Перед применением биопрепаратов инфекционный фон парши на обрабатываемых вариантах был одинаковый: поражение 0,33 % листьев и 0,50 % плодов. Штаммы *T. harzianum* № 2 и *T. viride* № 3 применяли блоком из двух последовательных обработок, баковую смесь (*T. viride* № 1 – 5,0 л/га + *T. viride* № 4 – 5,0 л/га) – однократно. Испытания показали, что на фоне единичного поражения плодов и листьев испытанные штаммы были эффективны (табл. 2).

Штамм *T. viride* № 3 показал лучшее сдерживание парши. Высокая эффективность была получена уже после первого применения: биоагент заблокировал развитие болезни на листьях и плодах и по уровню защиты на 4-е сутки соответствовал уровню защиты в стандарте, на 11-е сутки был несколько эффективнее. На 6-е сутки после второго применения данного штамма были получены аналогичные результаты.

Таблица 2 – Биологическая эффективность штаммов *Trichoderma* ООО «Биотехагро» против парши на яблоне, сорт Ренет Симиренко, 2016 г., (АО «Виктория-92», Динской район)

Вариант	Дата учета											
	29.08 – перед 1-й обработкой			02.09 – на 4-е сутки после 1-й обработки			08.09 – на 11-е сутки после 1-й обработки			14.09 – на 6-е сутки после 2-й обработки		
	P, %	R, %	БЭ, %	P, %	R, %	БЭ, %	P, %	R, %	БЭ, %	P, %	R, %	БЭ, %
	Листья											
Стандарт – Алирин-Б 5 л/га 2-кратно	0,33	0,13	99,8	0,33	0,13	99,8	1,33	0,47	99,4	0,67	0,33	99,5
<i>T. h.</i> № 2 5,0 л/га 2-кратно	0,33	0,13	99,8	0,67	0,40	99,4	2,00	0,60	99,2	1,83	0,97	98,6
Алирин-Б 5 л/га – ( <i>T. v.</i> № 1 – 5,0 л/га + <i>T. v.</i> № 4 – 5,0 л/га)	0,33	0,13	99,8	0,33	0,13	99,8	1,33	0,47	99,4	2,17	1,07	98,5
<i>T. v.</i> № 3 5,0 л/га 2-кратно	0,33	0,13	99,8	0,33	0,13	99,8	0,67	0,27	99,6	0,67	0,17	99,8
Контроль	82,5	66,3	-	90,4	70,0	-	92,5	72,7	-	85,4	69,4	-
	Плоды											
Стандарт – Алирин-Б 5 л/га 2-кратно	0,50	0,10	99,9	0,50	0,10	99,9	1,00	0,40	99,5	1,00	0,40	99,5
<i>T. h.</i> № 2 5,0 л/га 2-кратно	0,50	0,10	99,9	0,67	0,30	99,6	1,67	0,67	99,1	2,00	0,70	99,2
Алирин-Б 5 л/га – ( <i>T. v.</i> № 1 – 5,0 л/га + <i>T. v.</i> № 4 – 5,0 л/га)	0,50	0,10	99,9	0,50	0,10	99,9	1,00	0,40	99,5	2,33	1,10	98,7
<i>T. v.</i> № 3 5,0 л/га 2-кратно	0,50	0,10	99,9	0,50	0,10	99,9	0,83	0,27	99,7	0,83	0,27	99,7
Контроль	88,4	73,1	-	92,6	75,0	-	94,6	78,2	-	97,3	82,5	-

Штамм *T. harzianum* № 2 сдерживал распространение и развитие парши несколько менее эффективно: после первого применения развитие и распространение парши на плодах и листьях деревьев варианта увеличились. Эффект блокирования инфекции парши был достигнут после второго применения штамма. Однако по результатам двух обработок *T. harzianum* № 2 уступил как стандартному варианту, так и *T. viride* № 3.

Баковая смесь штаммов (*T. viride* № 1 + *T. viride* № 4) показала наименьшую эффективность защиты от парши, однако разница в показателях биологической эффективности по сравнению с другими вариантами была несущественной.

Таким образом, испытанные штаммы в условиях эпифитотии парши и на сорте, высоковосприимчивом к заболеванию, обеспечили эффективность защиты листьев на уровне 98,5-99,8 %, защиты плодов – на уровне 98,7-99,9 %.

**Выводы.** Результаты полевых испытаний подтвердили высокую антагонистическую активность четырех штаммов грибов рода *Trichoderma* в отношении возбудителя парши яблони *V. Inaequalis*. В зависимости от величины показателей распространения и интенсивности развития парши обработки культуральной жидкостью обеспечивали биологическую эффективность защиты в интервалах 79,5-97,1 % и 98,6-99,9 %, что соответствует эффективности зарегистрированных биофунгицидов.

Данные штаммы являются перспективными для создания на их основе биопестицидов против парши яблони, применение которых позволит повысить эффективность защиты от микопатогена, снизить пестицидную нагрузку и негативные последствия применения химических фунгицидов.

### Литература

1. Клыкова, М.В. Поиск штаммов микроорганизмов, потенциально активных в отношении бактериальных и грибных патогенов сельскохозяйственных культур / М.В. Клыкова, И.А. Дунайцев, С.К. Жиглецова [и др.] // Современная микология в России: Тез. докл. 3-го Съезда микологов России. – М.: Национальная академия микологии, 2012. – Т. 3. – С. 341.
2. Белошапкина, О.О. Влияние химических и биологических препаратов на *Venturia rugina* – возбудителя парши груши / О.О. Белошапкина // Микология и фитопатология. – 2015. – Том 49, Вып. 1. – С. 48-53.
3. Мохамед, Х.А. Бактерии-антагонисты с широким спектром активности против фитопатогенных грибов на яблоне (*Malus domestica*) / Х.А. Мохамед, А.М. Петерсон, В.Н. Эбрахим // Мониторинг и биологические методы контроля вредителей и патогенов древесных растений: от теории к практике: материалы Всерос. конф. с междунар. участием (18-22 апреля 2016 г.). – Красноярск: ИЛ СО РАН, 2016. – С. 151-152.
4. Романова, И.В. Антагонистическая и гидролазная активность *Trichoderma asperellum* / И.В. Романова, Д.И. Тазетдинова, Ф.К. Алимова // Современная микология в России: Тез. докл. 3-го Съезда микологов России. – М.: Национальная академия микологии, 2012. – Т. 3. – С. 351-352.
5. Штерншис, М.В. Тенденции развития биотехнологии микробных средств защиты растений в России / М.В. Штерншис // Вестник Томского государственного университета. – Биология. – 2012. – № 2 (18). – С. 92-100.
6. Коломбет Л.В. Грибы рода *Trichoderma* – продуценты биопрепаратов для растениеводства // Успехи медицинской микологии. – 2007. – Т. 1. – С. 323-371.
7. Якуба Г.В. Экологизированная защита яблони от парши в условиях климатических изменений: монография. – Краснодар: ГНУ СКЗНИИСиВ, 2013 г. – 213 с.
8. Якуба, Г.В. Оценка биологической эффективности биофунгицидов в защите от парши и биологизированный контроль основных микозов в агроценозах яблони / Г.В. Якуба // Научные труды СКЗНИИСиВ. – Том 9. – Краснодар: ФГБНУ СКЗНИИСиВ, 2016. – С. 193-200.
9. Методические указания по регистрационным испытаниям инсектицидов, акарицидов, моллюсков и родентицидов в сельском хозяйстве. – СПб, 2009. – 321 с.
10. Доспехов, Б.А. Методика полевого опыта / Б.А. Доспехов. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.
11. Методики опытного дела и методические рекомендации СКЗНИИСиВ. – Краснодар, 2002. – С. 143-176.
12. Методические указания по фитосанитарному и токсикологическому мониторингам плодовых пород и ягодников. – Краснодар, 1999. – 83 с.