

ПРИМЕНЕНИЕ БИОФУНГИЦИДОВ НА ОСНОВЕ *TRICHODERMA HARZIANUM* RIFAI ДЛЯ ОЗДОРОВЛЕНИЯ ПОЧВ В НАСАЖДЕНИЯХ АЛЫЧИ

Николай Николаевич Леонов¹
Виктор Петрович Сокирко²
Елизавета Айрапетовна Мелькумова³

¹Всероссийский научно-исследовательский институт
цветоводства и субтропических культур, г. Сочи

²Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина

³Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I

Для оздоровления бурых лесных почв влажных субтропиков России в насаждениях косточковой культуры алычи изучена перспективность применения биофунгицидов в сравнении с химическими фунгицидами. Исследования проводили в 2015–2017 гг. в посадках алычи 2000 г. (схема посадки 5 × 4 м, почва бурая лесная) в условиях Краснодарского края, г. Сочи. Микробиота корневой ризосферы алычи в химическом варианте представлена грибами из родов *Fusarium*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Cephalosporium*, *Verticillium*, *Aspergillus*. Из супрессивной микробиоты выделялись грибы рода *Trichoderma* и актинобактерии рода *Streptomyces* sp. Рассмотрена динамика развития почвенной микробиоты в системе «фитопатоген – супрессор». В качестве биофунгицидов применяли трихоцин, СП и глиокладин, Ж, действующим веществом которых являются споры гриба *Trichoderma harzianum*, а в качестве химических фунгицидов – хорус, ВДГ и скор, КЭ с однокомпонентными веществами – соответственно ципродинилом и дифеноконазолом. Большинство выявленных фитопатогенных грибов обладали вирулентными свойствами и относились к классу *Deuteromycetes*. Биологические фунгициды целенаправленно подавляли действие патогенных грибов, способствовали разложению растительных остатков и, как следствие, улучшали структуру почвы. На вариантах применения глиокладина, Ж и трихоцина, СП отмечено повышение урожайности соответственно на 12,0 и 8,0% по сравнению с вариантом применения химических фунгицидов. Агробиологическое оздоровление почвы существенно снижало потенциал грибов-фитопатогенов за счет возрастания количества КОЕ – колониобразующих единиц полезной (супрессивной) микробиоты. Установлено, что наиболее благоприятная обстановка по оздоровлению бурых лесных почв создается при применении глиокладина, Ж.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: косточковые культуры, алыча, биофунгициды, микробиота, оздоровление почвы, триходерма.

THE APPLICATION OF BIOFUNGICIDES CONTAINING *TRICHODERMA HARZIANUM* RIFAI FOR SOIL IMPROVEMENT UNDER CHERRY PLUM PLANTINGS

Nikolay N. Leonov¹
Viktor P. Sokirko²
Elizaveta A. Melkumova³

¹All-Russian Research Institute of Floriculture and Subtropical Crops, Sochi

²Kuban State Agrarian University named after I.T. Trubilin

³Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter the Great

The authors have studied the prospects of using biofungicides compared to chemical fungicides for the reclamation of brown forest soils under the plantings of cherry plum stone fruit in humid subtropics of Russia. Studies were conducted in 2015-2017 in the cherry plum garden planted on brown forest soils in 2000 (planting scheme of 5 × 4 m) in the conditions of Krasnodar Krai in Sochi. The microbiota of the root rhizosphere of cherry plum in the chemical variant was represented by fungi from the genera *Fusarium*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Cephalosporium*, *Verticillium*, and *Aspergillus*. The suppressive microbiota was represented by fungi of the *Trichoderma* genus and actinobacteria of the *Streptomyces* sp. genus. The authors have considered the dynamics of development of soil microbiota in the

system of «phytopathogen – suppressor». Trichocin WP and liquid Gliocladin were used as biofungicides with their active substance being the spores of the *Trichoderma harzianum* fungus. Chorus WG and Score EC with single-component substances (cyprodinil and difenoconazole, respectively) were used as chemical fungicides. Most of the identified phytopathogenic fungi had virulent properties and belonged to the class of Deuteromycetes. Biological fungicides purposefully inhibited the action of pathogenic fungi, promoted the decomposition of plant residues and, as a result, improved the structure of the soil. In the variants where liquid Gliocladin and Trichocin WP were used the yield increased by 12.0 and 8.0%, respectively, compared to the variants where chemical fungicides were used. Agrobiological soil reclamation significantly reduced the potential of phytopathogenic fungi by increasing the number of CFU, i.e. colony forming units of the useful (suppressive) microbiota. It has been established that the most favorable environment for the reclamation of brown forest soils was created when using liquid Gliocladin.

KEYWORDS: stone fruits, cherry plum, biofungicides, microbiota, soil reclamation, trichoderma.

Введение

В современных условиях ведения сельскохозяйственного производства без средств защиты невозможно получить хороший и качественный урожай, поэтому товаропроизводители стали применять все больше пестицидов и других химических средств. Интенсификация сельского хозяйства, основанная на применении минеральных удобрений, химических средств защиты растений, порождает массу проблем, среди которых можно отметить нарастающее загрязнение окружающей среды, почвоуплотнение и деградацию почв – вот далеко неполный список последствий, с которыми столкнулись сельхозтоваропроизводители многих стран мира. Усугубляют эти процессы глобальные климатические изменения [3, 10]. Ученые отмечают резкое увеличение числа вредных объектов – мигрантов из других континентов и зон, на полях появляются новые, ранее отсутствовавшие вредители, сорняки, болезни. Из-за масштабного применения химических пестицидов происходит формирование резистентности вредных объектов к химическим действующим веществам. Чтобы противостоять этим явлениям, ученые все чаще заявляют об обязательном использовании биопрепаратов как элементе интегрированной системы защиты растений и насаждений.

Садоводство является той отраслью, где использование биофунгицидов целесообразно и имеет большие перспективы. В целом в растениеводстве России в XXI в. обозначилась проблема фитотоксикоза почв. В аграрных предприятиях любой принадлежности существуют сады с ежегодным низким урожаем плодовых культур даже на фоне применения минеральных удобрений [7, 10].

В агрономической науке появились новые термины – «эпифитотийные сады», «агрессивный синергизм». Термин «агрессивный синергизм» при фитотоксикозе почв (синергизм – synergism – взаимодействие двух или нескольких организмов, усиливающих негативное воздействие на живой организм) предложен О.Л. Рудаковым [9].

Основными симптомами токсикоза являются снижение урожайности различных культурных растений, высокий процент заражения насаждений корневыми гнилями [10]. Обычно фитотоксикоз возникает при структурной и химической деградации почвы в садах с низким уровнем агротехники, при переувлажнении почв и т. д. По данным О.Л. Рудакова [9], фитотоксикоз усиливается при заселении почвы грибами рода *Fusarium*. При этом происходит разрушение микробных систем, что приводит к изменению структуры микроорганизмов с преобладанием фитопатогенных видов. В таких почвах обычно появляются фузариозные корневые гнили. В дальнейшем создаются оптимальные условия для взаимоотношений грибов рода *Fusarium* с грибами *Aspergillus* и *Penicillium* [2, 8].

Большинство исследований фитотоксикоза проводится в полевых условиях на черноземах выщелоченных [10]. Исследования, которые касались бы взаимодействия фитопатогенной и супрессивной микробиоты в почве ризосферы древесных растений с постоянным многолетним комплексом микробиоты в бурых лесных почвах влажных субтропиков, практически отсутствуют.

Для решения этой проблемы в течение трех лет изучалась динамика накопления конкурентной и патогенной микробиоты в бурых лесных почвах в посадках алычи в условиях Краснодарского края. Определение эффективности применения биофунгицидов в оздоровлении почвы под косточковой культурой (алычой) явилось основной целью исследований.

Материалы и методы

В качестве биофунгицидов применяли трихоцин, СП и глиокладин, Ж, действующим веществом которых являются различные штаммы гриба *Trichoderma harzianum*: Г.30 и 18, полученные из Всероссийского института защиты растений (ВИЗР). Первый препарат представлен в виде смачивающего порошка, второй – в виде жидкости.

Вариант 1 включал применение химических фунгицидов хорус, ВДГ (в виде воднодиспергируемых гранул) и скор, КЭ (в виде концентрата эмульсии) с однокомпонентными действующими веществами – соответственно ципродинилом и дифенокназоллом.

Исследования проводились в 2015–2017 гг. в насаждениях косточковой культуры алычи (схема посадки 5 × 4 м, площадь 1 га, сорт Обильная) на базе Государственного унитарного предприятия Краснодарского края совхоза «Октябрьский» г. Сочи.

Закладка и проведение опыта выполнялись в соответствии с общепринятой методикой [5].

Схема опыта по изучению влияния биофунгицидов на оздоровление почвы включала следующие варианты:

- 1) обработка химическими фунгицидами (ХФ): хорус, ВДГ – 0,2 кг/га, скор, КЭ – 0,2 л/га – сравнительный контроль;
- 2) обработка трихоцином, СП – 0,6 кг/га;
- 3) обработка глиокладином, Ж – 2 л/га.

Обработки осуществлялись путем пролива почвы в прикорневой зоне из расчета 2 л рабочего раствора на 1 м², затем отбирались почвенные образцы, которые исследовались в лаборатории почвенного микологического анализа и лаборатории почвоведения Кубанского государственного аграрного университета.

Идентификацию почвенных грибов, их количественный учет осуществляли традиционными микологическими методами (посев на питательные среды и микроскопический анализ) [1, 6].

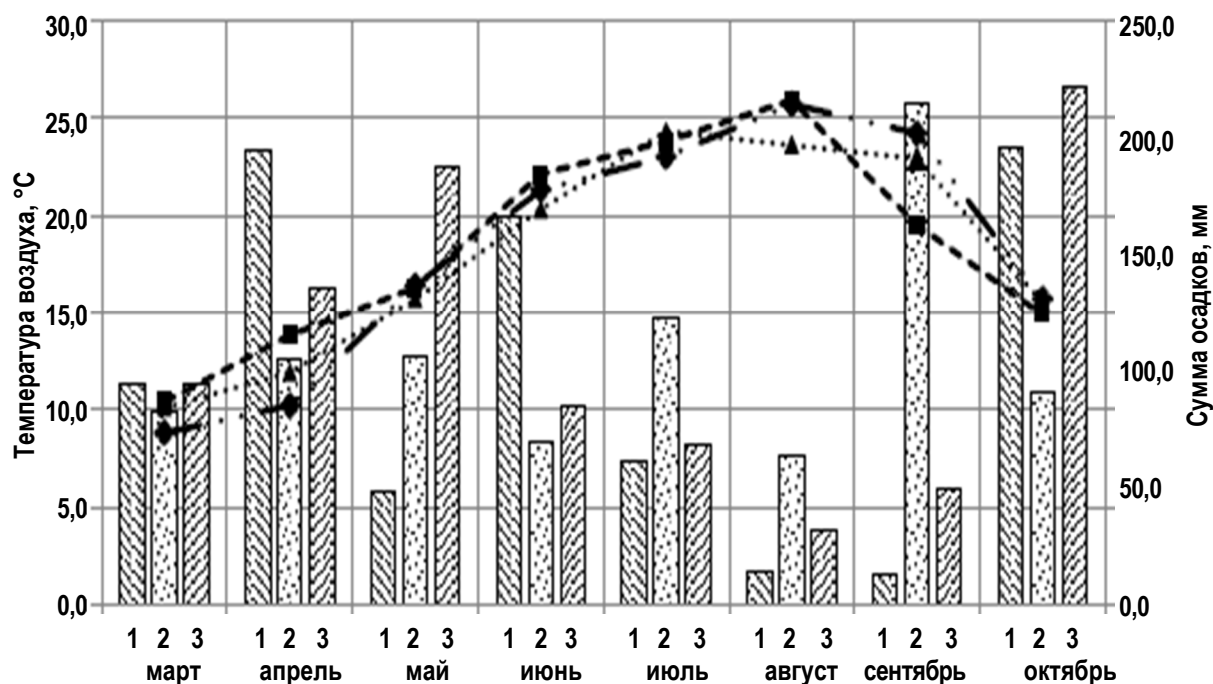
Учитывая тот факт, что биофунгициды подавляют фитопатогенную микробиоту и способствуют разложению растительных остатков, в программу почвенно-агрохимических исследований входило определение следующих показателей:

- рН – потенциометрическим методом;
- плотности почвы – по Качинскому;
- общей пористости – расчетным способом на основании плотности твердой фазы и плотности сложения;
- гранулометрического состава почвы – раствором пиррофосфата натрия;
- гумуса почвы – по методу Тюрина [10].

Статистическую обработку данных, полученных в результате проведенных исследований, проводили с использованием пакета программ Statistica 5.5. Для выявления существенного различия между исследуемыми вариантами использовался критерий Тьюки при достоверности данных $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Влияние биофунгицидов на оздоровление почвы в насаждениях алычи изучали в 2015–2017 гг., метеорологические условия которых были различными. Наиболее существенные отличия отмечены в количестве среднемесячных осадков, что оказало значительное влияние на развитие фитопатогенов в почве опытного участка (см. рис.).



Метеорологические показатели в период применения биофунгицидов в насаждениях алычи, 2015–2017 гг.: температура: 1 – 2015 г.; 2 – 2016 г.; 3 – 2017 г.; сумма осадков: —◆— 2015 г.; —■— 2016 г.; —▲— 2017 г.

Накануне обработки приствольных кругов препаратами в почве были выявлены следующие роды фитопатогенных микромицетов: *Fusarium*, *Cladosporium*, *Cephalosporium*, *Verticillium*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Aspergillus*.

Через 10 дней после внесения глиокладина, Ж и трихоцина, СП в корневой ризосфере растений алычи отмечено следующее процентное соотношение патогенной микробиоты:

- Fusarium* – 32%;
- Aspergillus* – 18%;
- Verticillium* – 14%;
- Alternaria* – 12%;
- Cephalosporium* – 7%;
- Cladosporium* – 7%;
- Penicillium* – 4%.

Динамика развития почвенной микробиоты в химическом варианте в системе «фитопатоген – супрессор» изменялась. Из антагонистической микробиоты выделялись грибы рода *Trichoderma*. Соотношение фитопатоген – супрессор во второй декаде мая составило 2,3 : 1 (табл. 1).

Изменялась микробиота на вариантах применения глиокладина, Ж и трихоцина, СП, при этом *T. harzianum* до июня 2017 г. активно накапливалась. Однако, несмотря на ее значительное развитие, отмечалось усиленное размножение альтернэрии и стабильное нарастание фузариоза. После внесения биофунгицидов глиокладин, Ж и трихоцин, СП фитопатогены продолжали развиваться до тех пор, пока не возрос количественный потенциал полезной микробиоты, угнетающей фитопатогены.

В начале июня 2017 г., на фоне высокой температуры и низкой влажности верхнего слоя почвы, наблюдался спад развития всех патогенных микромицетов, в то время как колонии антагонистов продолжали успешно развиваться. С июня произошло активное нарастание *Trichoderma* sp., что позволило снизить развитие фитопатогенов и уве-

лечить число колоний полезной микробиоты до 26 тыс. пропагул, что свидетельствует о высоком содержании комплексной антагонистической микробиоты.

Таблица 1. Динамика развития микробиоты в почве, КОЕ – тыс./г сух. почвы

Вариант	Fusarium	Cladosporium	Sephalosporium	Verticillium	Penicillium	Alternaria	Aspergillus	Trichoderma (антагонист)	Соотношение патоген – супрессор
Вторая декада мая									
ХФ	9	2	2	4	1	5	5	12	2,3 : 1
Трихоцин, СП	8	1	1	3	0	4	2	12	1,6 : 1
Глиокладин, Ж	8	0	0	2	1	4	0	14	1 : 1
Третья декада мая									
ХФ	24	2	2	4	2	20	7	21	3 : 1
Трихоцин, СП	17	0	0	1	1	18	2	23	1,7 : 1
Глиокладин, Ж	15	0	0	0	0	16	0	24	1,3 : 1
Первая декада июня									
ХФ	11	1	1	2	2	8	6	21	1,5 : 1
Трихоцин, СП	9	0	0	0	0	7	6	25	1 : 1,3
Глиокладин, Ж	8	0	0	0	0	2	5	26	1,3 : 1,7
Третья декада июня									
ХФ	17	0	0	0	0	7	4	22	1,3 : 1
Трихоцин, СП	8	0	0	0	0	6	2	26	1 : 1,6
Глиокладин, Ж	6	0	0	0	0	5	0	29	1 : 2,4

Следовательно, при внесении биофунгицидов в верхний горизонт почвы происходит нарастание колоний антагонистов – триходермы, в результате чего резко снижалось содержание пропагул фитопатогенов (*Fusarium*, *Cladosporium*, *Sephalosporium*, *Verticillium*, *Aspergillus*), что указывает на направленную, биологическую минимизацию инфекционного фона в почве.

В третьей декаде мая в образцах почвы контрольного варианта отмечалось максимальное количество фитопатогенной биоты, что составило (в среднем за три года) 61 тыс. пропагул в 1 г почвы. В образцах почвы варианта с применением биофунгицидов количество фитопатогенной микробиоты снижалось в 2 раза.

В образцах почвы второго варианта обнаружено 37 тыс./г КОЕ, третьего – 31 тыс./г. В фитопатогенной микробиоте преобладали грибы родов *Fusarium* и *Alternaria*.

Установлено, что в образцах почвы контрольного варианта на долю фузариозной инфекции приходилось 39% от выделенных фитопатогенных видов. Количество КОЕ составило 24 тыс. пропагул на 1 г почвы. В образцах почвы второго варианта этот показатель соответствовал 17 тыс. ед., или 28% от общего количества выделенных фитопатогенов. Следует отметить, что преобладала также альтернариозная инфекция, на долю которой приходилось 32,8% от общего количества фитопатогенных микромицетов.

В образцах почвы, отобранных на вариантах применения биофунгицидов, количество КОЕ фузариозной инфекции оказалось ниже альтернариозной. При этом кон-

трольный вариант характеризовался как самый высокий по содержанию КОЕ: для грибов рода *Aspergillus* – 7 тыс. пропагул на 1 г почвы, для грибов рода *Verticillium* – 4 тыс. В образцах почвы контрольного варианта обнаружено присутствие токсинообразующих грибов из родов *Penicillium* и *Cephalosporium*, свидетельствующее о том, что почва нуждается в дальнейшем оздоровлении.

Биофунгициды подавляют фитопатогенную микробиоту и способствуют разложению растительных остатков. Активным конкурентом фитопатогенам в почве является *T. harzianum*, выделяющая антибиотики (глиотоксин, виридин, триходермин), токсины, которые подавляют другие грибы (включая и фитопатогены), проникая в их гифы [4, 11]. Именно в гиперпаразитической активности, в конкуренции за источник питания, в способности образовывать комплекс ферментов и заключается биологический эффект триходермы.

Применение биофунгицидов оказало положительное влияние на структурное состояние бурых лесных почв, о чем свидетельствует увеличение в верхнем слое почвы количества агрономически ценных структурных агрегатов размером 0,25–10 мм (табл. 2). Наибольшее их количество отмечено в образцах варианта применения глиокладина, Ж, где их увеличение составило 10,1% относительно контроля. Аналогичная тенденция прослеживается при применении биофунгицида Трихоцин, СП, где отмечено увеличение ценных структурных агрегатов на 8,8%.

Хорошее гумусовое и структурное состояние почвы благоприятно отражается на ее общих физических свойствах. Установлено, что при применении биофунгицида глиокладина, Ж уменьшается величина плотности почвы на 7,9% относительно контроля. Использование трихоцина, СП снижало уровень плотности на 4,1%, что оказывало существенное влияние на продуктивность исследуемой косточковой культуры – алычи. Об этом свидетельствуют и расчеты общей пористости почвы, величина которой в опытных вариантах превышала контроль соответственно на 2,2 и 3,8%.

Таблица 2. Влияние биофунгицидов на содержание гумуса и структурные показатели бурых лесных почв в посадках алычи, %

Вариант	Легкоокисляемые формы гумуса	Структурные агрегаты размером 0,25–10 мм (+%)	Плотность почвы (-%)
Химические фунгициды	1,9	0	0
Трихоцин, СП	2,6	8,8	4,1
Глиокладин, Ж	3,0	10,1	7,9

Данные, представленные в таблице 2, также свидетельствуют, что внесение биофунгицидов трихоцин, СП и глиокладин, Ж способствовало увеличению количества общего гумуса. Легкоокисляемые формы гумуса в почве контрольного варианта составили 1,9%, во втором варианте этот показатель возрос до 2,6% и в третьем варианте – до 3,0%.

Заключение

Проведенные мероприятия по оздоровлению бурых лесных почв под насаждениями алычи позволили снизить фитопатогенную инфекцию возбудителей корневых гнилей косточковых культур и оптимизировать развитие супрессивных микромицетов. При этом в почве насаждений формируется совокупность биологических, физико-химических и агрохимических свойств, обеспечивающих развитие полезной микробиоты и подавление фитопатогенов.

Анализ действия биофунгицидов на урожайность косточковых культур показал, что приемы по оздоровлению почвы способствовали увеличению урожая плодов алычи. На варианте применения биофунгицида трихоцин, СП урожайность повысилась по

сравнению с вариантом применения химических фунгицидов на 8%. Наибольшая прибавка урожая плодов отмечена на варианте применения глиокладина, Ж – на 12%.

Таким образом, можно сделать вывод, что агробиологическое оздоровление почвы существенно уменьшает потенциал фитопатогенов за счет возрастания количества КОЕ полезной микробиоты. Оздоровление почвы биофунгицидами способствует оптимизации гумусового и структурного состояния бурых лесных почв, что оказывает благоприятное воздействие на их физические свойства и пищевой режим.

Библиографический список

1. Билай В.И. Методы экспериментальной микологии / В.И. Билай. – Киев : Наукова думка, 1978. – 239 с.
2. Биологическая защита растений / Ф.У.С. Джалилов, И.В. Андреева, О.Г. Томилова ; под ред. д-ра биол. наук, проф. М.В. Штерншис. – Москва : КолосС, 2004. – 264 с.
3. Глинушкин А.П. Фитосанитарные и гигиенические требования к здоровой почве / А.П. Глинушкин, М.С. Соколов, Е.Ю. Торопова. – Москва : Агрорус, 2016. – 288 с.
4. Гнеушева И.А. Биологическая активность грибов рода *Trichoderma* и их промышленное применение / И.А. Гнеушева // Вестник Орловского государственного аграрного университета. – 2010. – № 3 (24). – С. 36–38.
5. Долженко В.И. Методические указания по регистрационным испытаниям фунгицидов в сельском хозяйстве / В.И. Долженко. – Санкт-Петербург : ВИЗР, 2009. – 378 с.
6. Кураков А.В. Методы выделения и характеристика комплексов микроскопических грибов наземных экосистем : учебно-методическое пособие / А.В. Кураков. – Москва : МАКС Пресс, 2001. – 92 с.
7. Леонов Н.Н. Эффективность применения Глиокладина в защите алычи от болезней в субтропиках России / Н.Н. Леонов // Современные проблемы инновационного развития сельского хозяйства и научные пути технологической модернизации АПК : матер. Международной науч.-практ. конф. – Махачкала : Дагестанский НИИСХ, 2016. – С. 111–116.
8. Петровский А.С. Микробиологические препараты в растениеводстве : альтернатива или партнерство? // А.С. Петровский, С.Д. Каракотов // Защита и карантин растений. – 2017. – № 2. – С. 14–18.
9. Рудаков В.О. Природа почвенных фитотоксикозов и проблема защиты растений / В.О. Рудаков // Агро XXI. – 2009. – № 13. – С. 11–13.
10. Сокирко В.П. Применение *Trichoderma harzianum* против почвенной фузариозной инфекции / В.П. Сокирко, М.В. Немченко, А.А. Бальян // Материалы 72-й научно-практической конференции преподавателей Кубанского ГАУ (г. Краснодар, 29 марта 2017 г.). – Краснодар : ФГБОУ ВО КубГАУ, 2017. – С. 251–252.
11. Терпелец В.И. Учебно-методическое пособие по агрофизическим и агрохимическим методам исследования почв / В.И. Терпелец, В.Н. Слюсарев. – Краснодар : КубГАУ. – 2010. – 65 с.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ Принадлежность к организации

Николай Николаевич Леонов – кандидат сельскохозяйственных наук, зав. отделом защиты растений ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт цветоводства и субтропических культур», Россия, г. Сочи, e-mail: ozt@vniisubtrop.ru.

Виктор Петрович Сокирко – доктор биологических наук, профессор кафедры фитопатологии, энтомологии и защиты растений ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина», Россия, г. Краснодар, e-mail: mail@kubsau.ru.

Елизавета Айрапетовна Мелькумова – доктор биологических наук, профессор кафедры земледелия, растениеводства и защиты растений ФГБОУ ВО «Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I», Россия, г. Воронеж, e-mail: botanika@agronomy.vsau.ru.

Дата поступления в редакцию 12.01.2019

Дата принятия к печати 24.02.2019

AUTHOR CREDENTIALS Affiliations

Nikolay N. Leonov, Candidate of Agricultural Sciences, Head of the Plant Protection Department, All-Russian Research Institute of Floriculture and Subtropical Crops, Russia, Sochi, e-mail: ozt@vniisubtrop.ru.

Viktor P. Sokirko, Doctor of Biological Sciences, Professor, the Dept. of Phitopathology, Entomology and Plant Protection, Kuban State Agrarian University named after I.T. Trubilin, Russia, Krasnodar, e-mail: mail@kubsau.ru.

Elizaveta A. Melkumova, Doctor of Biological Sciences, Professor, the Dept. of Soil Management, Crop Science and Plant Protection, Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter the Great, Russia, Voronezh, e-mail: botanika@agronomy.vsau.ru.

Received January 12, 2019

Accepted February 24, 2019