

**ВЛИЯНИЕ СПОР *TRICHODERMA ASPERELLUM*
И МЕТАБОЛИТОВ *FUSARIUM SPOROTRICHIOIDES*
НА РОСТОВЫЕ ПРОЦЕССЫ И ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ АППАРАТ
ПШЕНИЦЫ**

© 2020 г. Т. И. Голованова^{1,*}, Н. А. Гаевский^{1,**}, А. Ф. Валиулина^{1,***}, Ю. А. Литовка^{1,****}

¹ Сибирский федеральный университет, 660041 Красноярск, Россия

*e-mail: tigolovanova@mail.ru

**e-mail: nikgna@gmail.com

***e-mail: valiulina1988@mail.ru

****e-mail: litovkajul@rambler.ru

Поступила в редакцию 14.02.2019 г.

После доработки 11.06.2019 г.

Принята к публикации 20.12.2019 г.

Исследовали влияние спор *Trichoderma asperellum* МГ-97 и метаболитов *Fusarium sporotrichioides* Z3-06 на физиологические параметры молодых растений пшеницы (*Triticum aestivum*). Обработка спорами *Trichoderma asperellum* увеличивала лабораторную всхожесть семян, усиливала рост растений на 10 и 30-е сутки вегетации. Одновременно увеличилась площадь листьев, масса надземной части растений и масса корней. Влияние на содержание суммы зеленых пигментов было незначительным. Метаболиты *Fusarium sporotrichioides*, напротив, отрицательно влияли на большинство перечисленных показателей пшеницы. Исключение касается зеленых пигментов, содержание которых в листьях увеличилось. При совместном действии спор *Trichoderma asperellum* и метаболитов *Fusarium sporotrichioides* показатели роста были близки к контролю, однако всхожесть семян и энергия прорастания были подавлены. Флуоресценция листьев, зарегистрированная с помощью РАМ-методики в режимах “быстрая световая кривая” и “индукционная кривая” показала, что положительное действие *Trichoderma asperellum* на ростовые процессы молодых растений пшеницы не сопровождается активацией нециклического транспорта электронов. Сравнение фотохимического и нефотохимического тушения флуоресценции позволяет предположить: метаболиты *Fusarium sporotrichioides*, подавляя АТФ-синтазу, ингибируют реакцию фосфорилирования белков Lhcb2 в составе светособирающего комплекса ФСII. *Trichoderma asperellum* контролирует только действие метаболитов *Fusarium sporotrichioides* на АТФ-синтазу.

Ключевые слова: квантовый выход, микромицеты, пигменты, ростовые процессы, световые кривые, *Fusarium*, *Trichoderma*

DOI: 10.31857/S0026364820020038

ВВЕДЕНИЕ

Микроорганизмы, заселяющие ризосферу, находятся в тесном взаимодействии с растениями и оказывают существенное влияние на их рост и развитие. Одни — продуценты разнообразных фитотоксинов — полностью подавляют и задерживают рост растений, другие обеспечивают растения необходимыми элементами питания и регуляторами роста, а также защищают от патогенных микроорганизмов и повышают устойчивость к стресс-факторам (Meera et al., 1994; Yedidia et al., 2003; Tsavkelova et al., 2006; Van Loon, 2007; Mukherjee et al., 2010; El Komy et al., 2015). Среди почвенных микроорганизмов особое место занимают грибы рода *Trichoderma* (Samuels et al., 2010). Впервые род *Trichoderma* был предложен Персоном в 1794 г. (Seyketov, 1982; Samuels, 2006). В настоящее

время в составе рода *Trichoderma* известно более 200 видов. Большинство из них определены в начале XXI в. R. Weindling (1932) первым указал на потенциальную способность *Trichoderma* выступать эффективным агентом биоконтроля болезней растений.

Изучение антагонистических свойств и особенно избирательного действия специфических веществ, выделяемых грибами рода *Trichoderma*, представляет интерес в связи с выяснением характера взаимоотношений с микроорганизмами, влияния *Trichoderma* на отдельных представителей микрофлоры, а также для использования в борьбе с различными фитопатогенными организмами. Возможность применения различных органических субстратов с высоким выходом биомассы гриба оправдывает применение *Trichoderma* в биотехнологических процессах (Klein, Eveleigh, 1998).

Грибы рода *Trichoderma* проявляют антагонизм за счет способности 1) вытеснять медленно растущие микроорганизмы за счет быстрого освоения субстрата, 2) проявлять гиперпаразитическую активность, 3) продуцировать антибиотические вещества (Barbosa et al., 2001). *Trichoderma* также стимулирует процессы роста и увеличивает продуктивность культурных растений и их устойчивость к стрессорам (Meera et al., 1994; Yedidia et al., 2003; Golovanova, Loginova, 2005; Tsavkelova et al., 2006; Van Loon, 2007; Mukherjee et al., 2010).

Важным качеством определенных штаммов *Trichoderma* является высокая антагонистическая активность в отношении фитопатогенных грибов рода *Fusarium*, которые вызывают инфекционное заболевание (фузариозы) культурных растений и значительно снижают их урожайность (Gromovikh et al., 2002; Gagkaeva et al., 2011; Matarese et al., 2012; Tian et al., 2016). Представители *Fusarium sporotrichioides* синтезируют широкий спектр биологически активных веществ, включая группу микотоксинов (Т-2, НТ-2, диацетоксисцирпенол, зеараленон, эниатины), которые способны накапливаться в зерне и продуктах, вызывая интоксикацию у человека, сельскохозяйственных животных и птиц. Наибольшую опасность представляет Т-2 фузариотоксин из группы трихотеценов, который ингибирует синтез нуклеиновых кислот и вызывает клеточный апоптоз (D'Mello et al., 1999; Placinta et al., 1999; Burkin et al., 2008; Gagkaeva et al., 2011). Рассматривают два механизма действия грибов рода *Fusarium*: 1) взаимодействие спор с клетками корня, их прорастание и блокирование обменных процессов растений (Pshibytko et al., 2006) и 2) негативное влияние метаболитов *F. oxysporum* на накопление биомассы, фотосинтез и содержание зеленых пигментов (Wu et al., 2008). Заболевание, вызываемое *Fusarium*, затрагивает фотосинтетический транспорт электронов в тилакоидах, восстановительный пентозофосфатный цикл, устьичную проводимость для CO_2 (Duniway, Slatyer, 1971; Lorenzini et al., 1997; Saeed et al., 1999; Santos et al., 2000). Однако данные о влиянии *Fusarium* на фотосинтетическую активность растений не позволяют установить, какой из перечисленных выше процессов наиболее чувствителен к этому патогену. Наиболее активным антагонистом *Fusarium* являются штаммы *Trichoderma asperellum* (Samuels et al., 1999; El Komy et al., 2015).

Стимуляция роста растений, наблюдаемая при взаимодействии с *Trichoderma*, не изучена с позиций концепции эндогенной регуляции (Mokronosov, 1978). Недостаточно экспериментальных данных о влиянии метаболитов *Fusarium* на процессы фотосинтеза. Отсутствуют данные о совместном действии *Trichoderma* и метаболитов *Fusarium* на ростовые процессы и фотосинтез.

Целью работы было исследование ростовых и фотосинтетических показателей пшеницы в усло-

виях индивидуального и совместного влияния спор *T. asperellum* и метаболитов фитопатогенного гриба *Fusarium sporotrichioides*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на проростках пшеницы *Triticum aestivum* cv. Омская-32. Поверхность семян стерилизовали 0.5%-м р-ром KMnO_4 в течение 10 мин, затем 8–10 раз промывали стерильной дистиллированной водой. Избыток влаги с поверхности семян удаляли фильтровальной бумагой. Семена без видимых повреждений были разделены на группы: К (контроль) – семена, не обработанные микромицетами; TR – семена, опудренные спорами *Trichoderma asperellum* (штамм МГ-97); FUS – семена, погруженные на 24 ч в фильтрат культуры гриба *Fusarium sporotrichioides* (штамм Z 3-06); FUS + TR – семена, обработанные метаболитами фузариума, высаженные в почву, обработанную спорами *Trichoderma asperellum* МГ-97 (10^8 спор/мл).

Штамм *Trichoderma* sp. МГ-97 выделен Т.И. Громовых из почвы Маганского лесопитомника Красноярского края, депонирован в коллекции промышленных микроорганизмов под F-765. Штамм обладает высокой антагонистической активностью в отношении фитопатогенных микроорганизмов из рода *Fusarium* (Gromovikh et al., 2001). *Fusarium sporotrichioides* культивировали при 28°C в течение 14 дней на токсигенной среде Муго: глицерин – 10, сахароза – 20, KH_2PO_4 – 1, NaCl – 0.5, NaNO_3 – 3, $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ – 0.5 г л⁻¹, на которой практически полностью подавляется споруляция и идет интенсивный биосинтез токсинов (Monastyrskiy, 1996). Иммуноферментный анализ (GOST R 52471-2005, 2006), проведенный на базе Краевой ветеринарной лаборатории г. Красноярска, подтвердил способность используемого в работе сибирского штамма *F. sporotrichioides* синтезировать Т-2 фузариотоксин. Семена по 50 штук каждого варианта высадили в контейнеры (18 дм³) с почвой, состоящей из верхового торфа, низового торфа, песка и доломитовой муки (рН 5.5–6.5, азота – 30%, фосфора – 30%, калия – 40%).

Растения выращивали при естественном освещении (фотопериод 16–17 ч), средний уровень облученности 300 мкмоль фотонов м⁻² с⁻¹; относительная влажность воздуха $75 \pm 3\%$; температура воздуха $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Для полива использовали отстоянную водопроводную воду, поддерживая относительную влажность почвы на уровне 60%. На 30-й день выращивания растения сформировали 3–4 листа.

Всхожесть семян определяли по GOST 12038-84 (2011). Сырую и сухую массу целого растения, длину надземной части и главного корня определяли на 10 и 30-е сутки. Площадь листьев измеряли с помощью программы Image-J 1.43 на основе сканированного изображения. Относительные

изменения физиологических показателей рассчитывали согласно формуле: $(O - K)/K$, где O — значения в опыте, K — значения в контроле.

Листья (в каждом варианте объединяли вторые листья) фрагментировали и тщательно перемешивали. Навеску от 80 до 100 мг переносили в пробирку, добавляли 10 мл 96%-го этилового спирта, нагревали при 70°C в течение 30 мин. Полная экстракция пигментов проходила в темноте при 4°C в течение 12–14 ч. Оптическую плотность определяли с помощью спектрофотометра Specol-1300 (Germany). Концентрацию хлорофиллов (мкг/мл) рассчитывали по (Wintermans, DeMots, 1965): $C_a = 13.7 \times (D_{665} - D_{720}) - 5.76 \times (D_{649} - D_{720})$; $C_b = 25.8 \times (D_{649} - D_{720}) - 7.6 \times (D_{665} - D_{720})$. Содержание пигментов выражали в $\text{мг} \times \text{г}^{-1}$ сырой массы. Долю хлорофиллов ($a + b$) в составе светособирающих комплексов (ССК) рассчитывали по Lichtenthaler (1987): $\text{ССК} = (1.2 \times C_b + C_a)/(C_a + C_b)$, считая, что весь хлорофилл b входит в состав ССК и отношение хлорофиллов a/b в ССК лежит в интервале 1.1–1.3.

Фотосинтетическую активность листьев определяли на 30-е сутки на основе показателей быстрой флуоресценции хлорофилла. Использовали флуориметр JUNIOR-PAM (Walz, Effeltrich, Germany) и программу WinControl-3 в режимах записи “Световая кривая” и “Индукция”. Световую кривую регистрировали в диапазоне $(66–828) \times 10^{-6}$ М фотонов $\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$, индукционную кривую — при световой облученности 420×10^{-6} М фотонов $\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$. Максимальный квантовый выход ФС2 [$Y(II)_m$] рассчитывали на основе нулевого F_0 и максимального F_m уровней (Kitajima, Butler, 1975): $Y(II)_m = (F_m - F_0)/F_m$.

Скорость фотосинтетического транспорта электронов (ETR, мкмоль электронов $\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$) определяли по уравнению: $\text{ETR} = Y(II) \text{ETR}_{\text{factor}} I_{\text{PAR}} \times 0.5$, где $Y(II)$ квантовый выход ФС2 равный $(F_m' - F)/F_m'$, F_m' — максимальный уровень флуоресценции в условиях насыщающей вспышки света при заданном уровне световой энергии, F — уровень непосредственно перед насыщающей вспышкой, $\text{ETR}_{\text{factor}}$ — эффективность поглощения света листовой пластинкой, обычно принимают равным 0.84, I_{PAR} — световой поток в области ФАР (мкмоль фотонов $\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$), 0.5 — доля фотонов, поглощенных ФС2 (Ritchie, 2008). Программное обеспечение Junior-PAM позволяет определить: α — тангенс угла наклона световой кривой на линейном начальном участке (квантовый выход фотосинтеза электрон/фотон); ETR_m — максимальную скорость транспорта электронов ($\times 10^{-6}$ М электронов $\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$); E_k — минимальную насыщающую I_{PAR} ($\times 10^{-6}$ М фотонов $\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$) (Jassby, Platt, 1976).

При определении физиологических параметров использовали 20–30 растений, флуоресцентных характеристик — не менее 15 растений.

Достоверность различий средних определяли на основе критерия Тьюки–Крамера ($p < 0.05$). Количественные данные представлены как $M \pm m$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Относительные различия физиолого-морфологических показателей контрольных и опытных растений пшеницы на 10 и 30 сутки вегетации показаны на рис. 1. Обработка семян спорами *Trichoderma asperellum* положительно влияла на все исследованные физиолого-морфологические параметры пшеницы. Достоверные отличия средних величин в опытных вариантах от контроля проявились в тех случаях, когда стимулирующий эффект превышал 20% (для лабораторной всхожести при 11%). Стимуляцию на уровне 20% наблюдали для длины корня, сырой биомассы (30-е сутки), площади листьев (10-е сутки); на уровне 40% — для длины корня и сырой биомассы (10-е сутки). Наибольшую стимуляцию отмечали для сухой биомассы на 10 и 30-е сутки (100 и 67%, соответственно), наименьшую (10%) — для длины надземной части. Стимулирующий эффект *T. asperellum* на физиолого-морфологические показатели во всех случаях был выше на 10 сутки. Полученные результаты согласуются с данными работ (Yedidia et al., 2001; Golovanova et al., 2009).

Метаболиты *Fusarium sporotrichioides* во всех случаях оказали негативное действие на физиолого-морфологические параметры пшеницы (рис. 1). Отклонения средних величин в опытном варианте от контроля больше, чем на 20%, были достоверны. Для большинства показателей ингибирование составляло от 35 до 50% от контроля. Максимальный эффект наблюдали на 30-е сутки.

Споры *Trichoderma* в почве вызывали различные эффекты (рис. 1). В большинстве случаев в варианте FUS + TR показатели уступали контролю. Различия лабораторной всхожести, сырой и сухой биомассы растения по сравнению с контролем достоверны. *Trichoderma* не только ослабила действие метаболитов *F. sporotrichioides*, но и увеличила длину надземной части и площадь листьев по отношению к контролю на 10 сутки вегетации растения.

Содержание фотосинтетических пигментов в листьях представлено в табл. 1. В варианте TR содержание хлорофиллов a и b , их сумма и доля ССК уменьшились по отношению к контролю. Влияние *Trichoderma* было достоверным только на 10-е сутки. Снижение содержания хлорофиллов a и b и их суммы составляло 10, 5 и 16%, соответственно.

Положительные достоверные эффекты были получены в варианте FUS за весь период вегетации. Наибольшее увеличение зеленых пигментов и их суммы наблюдали на 10-е сутки (хлорофилл

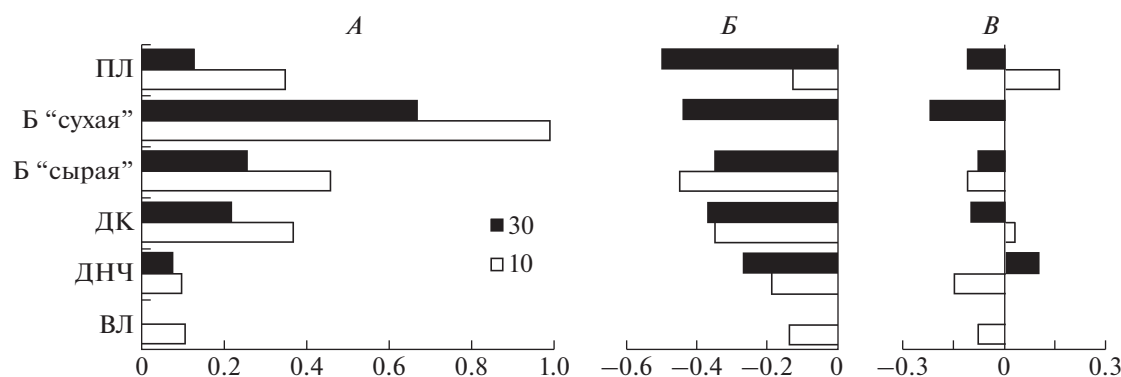


Рис. 1. Относительные изменения физиологических показателей растений пшеницы на 10 и 30-е сутки вегетации по сравнению с контролем: А – семена, опудренные спорами *Trichoderma asperellum* (TR); Б – семена, погруженные на 24 ч в фильтрат культуры *Fusarium sporotrichioides* (FUS); В – семена, обработанные метаболитами фузариума, высаженные в почву, обработанную спорами *Trichoderma asperellum* (FUS + TR); ЛВ – лабораторная всхожесть; ДНЧ – длина надземной части; ДК – длина корня; Б – биомасса целого растения; ПЛ – площадь листьев.

a – 44%, хлорофилл *b* – 62% и сумма – 50%). Влияние *F. sporotrichioides* на 30 сутки составляло 14, 38 и 16%, соответственно. В варианте FUS + TR содержание хлорофилла *a* и сумма хлорофиллов *a* и *b* на 10-е сутки достоверно уменьшались на 15 и 11%, соответственно, по сравнению с контролем.

Параметры световой кривой нециклического транспорта электронов у листьев пшеницы на 30-е сутки вегетации представлены в табл. 2. Тангенс угла наклона (α) световой кривой в контроле и в вариантах TR, TR + FUS изменялся от 0.249 до 0.271 (различия недостоверны). В варианте FUS величина α ($\alpha = 0.219 \pm 0.006$) была минимальной и достоверно отличалась от других вариантов.

Значения ETR_m в контроле (31.2 ± 1.7 мкмоль фотонов $m^{-2} c^{-1}$), вариантах: TR (29.4 ± 1.6 мкмоль фотонов $m^{-2} c^{-1}$) и TR + FUS (34.7 ± 1.8 мкмоль фотонов $m^{-2} c^{-1}$) достоверно не различались, но были достоверно выше, чем в варианте FUS (26.8 ± 1.3 мкмоль фотонов $\times m^{-2} c^{-1}$). Минималь-

ная насыщающая интенсивность света (E_k) не показала достоверных различий между контролем и остальными вариантами. Среднее значение E_k составляло (122 ± 4) мкмоль фотонов $m^{-2} c^{-1}$.

Максимально возможный квантовый выход [$Y(II)_{max}$] фотохимической реакции с участием ФС2, регистрируемый при первой короткой ($t \sim 1$ с) насыщающей вспышке света с помощью РАМ флуориметра, у всех исследованных вариантов растений варьировал слабо и составлял 0.76 ± 0.01 . Для большинства изученных видов с C_3 -типом фотосинтетического метаболизма нормой являются значения $Y(II)_{max}$ в интервале от 0.78 до 0.84 (Björkman et al., 1987).

Индукционные изменения квантового выхода фотохимического ($Y(II)$) и нефотохимического $Y(NPQ)$ тушения флуоресценции показаны на рис. 2А и 2Б. Включение актиничного света вызывало быстрое (в пределах 12 с) падение величины $Y(II)$ (рис. 2А). В контрольном варианте и вариан-

Таблица 1. Влияние микромицетов на содержание фотосинтетических пигментов у пшеницы

Параметры	Время вегетации, сутки	Варианты опыта			
		К	TR	FUS	FUS + TR
Хлорофилл <i>a</i> , мг/г с.м.	10	1.14 ± 0.01	<u>1.02 ± 0.03</u>	<u>1.65 ± 0.15</u>	<u>0.98 ± 0.06</u>
	30	1.87 ± 0.02	1.84 ± 0.02	<u>2.13 ± 0.04</u>	1.96 ± 0.13
Хлорофилл <i>b</i> , мг/г с.м.	10	0.44 ± 0.00	<u>0.31 ± 0.02</u>	<u>0.72 ± 0.10</u>	0.42 ± 0.03
	30	0.72 ± 0.02	0.68 ± 0.07	<u>0.99 ± 0.02</u>	0.80 ± 0.07
Сумма хлорофиллов <i>a</i> + <i>b</i> , мг/г с.м.	10	1.58 ± 0.02	<u>1.33 ± 0.06</u>	<u>2.37 ± 0.09</u>	<u>1.40 ± 0.07</u>
	30	2.69 ± 0.05	2.52 ± 0.09	<u>3.13 ± 0.07</u>	2.76 ± 0.09
Светособирающий комплекс	10	0.62 ± 0.01	<u>0.50 ± 0.02</u>	<u>0.67 ± 0.02</u>	0.66 ± 0.05
	30	0.61 ± 0.01	0.59 ± 0.04	<u>0.70 ± 0.00</u>	0.64 ± 0.05

Примечание. К – контроль; TR – семена, опудренные спорами *Trichoderma asperellum*; FUS – семена, погруженные на 24 ч в фильтрат культуры *Fusarium sporotrichioides*; FUS + TR – семена, обработанные метаболитами фузариума, высаженные в почву, обработанную спорами *Trichoderma asperellum*. Достоверность различий от контроля выделена подчеркиванием.

Таблица 2. Влияние микромицетов на параметры световой кривой фотосинтетического нециклического транспорта электронов у пшеницы на 30-е сутки вегетации

Параметры	Варианты опыта			
	K (<i>n</i> = 21)	TR (<i>n</i> = 27)	FUS (<i>n</i> = 12)	FUS + TR (<i>n</i> = 19)
α	0.265 ± 0.006	0.263 ± 0.007	<u>0.219 ± 0.006</u>	0.261 ± 0.012
ETR _m	31.2 ± 1.7	29.4 ± 1.6	<u>26.8 ± 1.3</u>	34.7 ± 1.8
E _k	119.1 ± 7.8	113.2 ± 6.1	123.3 ± 6.8	131.0 ± 5.0

Примечание. Условные обозначения — см. табл. 1; *n* — количество исследованных растений в вариантах.

тах TR и FUS минимальные значения $Y(II)$ составляли 0.043 ± 0.002 , в варианте FUS + TR — 0.073 ± 0.007 . Следующий за спадом медленный рост $Y(II)$ в интервале 15–300 с происходил во всех вариантах. В контроле и вариантах TR и FUS + TR кинетические кривые достоверно не различались, в варианте FUS скорость роста $Y(II)$ существенно уступала остальным трем вариантам. Величина $Y(II)$ в конце индукционного периода в варианте TR незначительно уступала контрольному и опытному варианту FUS + TR. Величина $Y(II)$ в варианте FUS была ниже контрольного варианта в 1.7 раза.

Индукционные кривые нефотохимического тушения $Y(NPQ)$ (рис. 2Б) сравнили по тангенсу угла наклона на начальном участке и по стационарной величине. Значения тангенса угла наклона в контроле (0.020 ± 0.001) и варианте TR (0.019 ± 0.001) достоверно отличались от вариантов FUS (0.010 ± 0.002) и FUS + TR (0.013 ± 0.001). Наибольшее значение стационарной величины $Y(NPQ)$ показал вариант FUS (0.501 ± 0.015), минимальное — вариант FUS + TR (0.403 ± 0.024). В контроле и варианте TR значения $Y(NPQ)$ составляли 0.473 ± 0.012 и 0.437 ± 0.022 , соответственно.

ОБСУЖДЕНИЕ

Увеличение размеров и массы у проростков пшеницы на 10 и 30 день вегетации (рис. 1) после обработки семян спорами *Trichoderma asperellum* штамм МГ-97 подтвердило возможность участия в регуляции ростовых процессов растений экзотеаболитов гриба, которые появляются после прорастания спор и развития мицелия. Снижение стимуляции роста пшеницы на 30-е сутки вегетации под действием спор *T. asperellum*, вероятно, связано с ранним переходом растений к процессу образования репродуктивных органов (Golovanova, Timonina, 2004).

Ингибирующее влияние *Fusarium sporotrichioides* на все морфобиологические параметры растения, включая всхожесть семян, указывает на то, что его метаболиты проникают в ткани растения уже на этапе обработки семян. Растения не способны мобилизовать свой иммунный потенциал для защиты от патогенов на ранних стадиях развития, что согласуется с данными литературы (Bio-regulation., 2010).

Trichoderma asperellum МГ-97, наряду с другими известными штаммами этого гриба (Gomes et al., 2015, Singh et al., 2018), способен снижать ингиби-

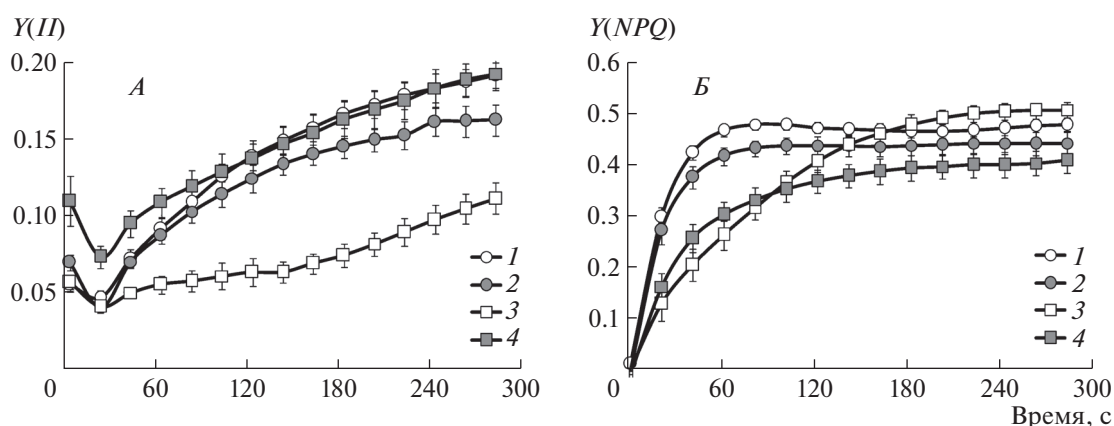


Рис. 2. Светоиндуцированные изменения квантового выхода фотохимического [$Y(II)$] (А) и нефотохимического [$Y(NPQ)$] (Б) тушения флуоресценции у растений пшеницы на 30-е сутки вегетации: 1 — семена, не обработанные микромицетами (контроль); 2 — семена, погруженные на 24 ч в фильтрат культуры *Fusarium sporotrichioides* (FUS); 3 — семена, обработанные метаболитами фузариума, высаженные в почву, обработанную спорами *Trichoderma asperellum* (FUS + TR); 4 — семена, опудренные спорами *T. asperellum* (TR).

рующее действие метаболитов *Fusarium sporotrichioides* на ростовые процессы растений. Нейтрализующее действие *Trichoderma asperellum* может быть связано с его способностью к ингибированию синтеза митотоксинов *Fusarium sporotrichioides*, либо с их разрушением (El-Hasan et al., 2008).

Под влиянием метаболитов *F. sporotrichioides* (табл. 1) достоверно возрастала сумма хлорофиллов *a* и *b*: 10-е сутки — на 50, 30-е сутки — на 16%. Подобные изменения реакции в содержании пигментов у растений на стрессовые факторы отмечали Lichtenthaler (1987), Green, Durnford (1996), Kitajima, Hogan. (2003), Xing et al. (2013), Pavlović et al. (2014), Filimon et al. (2016), Sayyad-Amin et al. (2016), Shah et al. (2017). С увеличением времени воздействия патогена содержание зеленых пигментов уменьшилось. Влияние микромицетов на рост, морфологические и физиологические параметры растений в рамках концепции эндогенной регуляции (Mokronosov, 1978) должно затрагивать процессы фотосинтеза. Однако обработка спорами *Trichoderma asperellum* не оказывала влияния на скорость нециклического транспорта электронов в условиях насыщения (табл. 2). *Fusarium sporotrichioides* ингибировал данный процесс. Дополнительное внесение *Trichoderma asperellum* снижало этот ингибирующий эффект.

Дополнительную информацию о функционировании фотосинтеза в период, когда происходит настройка световых и темновых процессов, дал анализ индукции флуоресценции при переходе “темнота—свет”. Характер индукционных кривых квантового выхода ФСII [$Y(II)$, рис. 2А] указывает на значительное снижение скорости электронного транспорта на участке после первичного акцептора ФСII на 20-й секунде индукции. Процесс происходит у всех вариантов и может быть связан с образованием электрохимического потенциала ионов H^+ на мембране тилакоида.

Следующее за этим расходование электрохимического потенциала ионов H^+ в реакции фотофосфорилирования сопровождается ростом $Y(II)$ и, вероятно, также увеличением скорости нециклического транспорта электронов. Среди изученных вариантов только метаболиты *Fusarium sporotrichioides* повлияли на медленную кинетику $Y(II)$ (рис. 2А), что, вероятно, связано со снижением активности АТФ-синтазы и сохранением электрохимического потенциала ионов H^+ на мембране тилакоида. Обработка спорами *Trichoderma asperellum* устраняла негативное действие метаболитов *Fusarium sporotrichioides* на индукцию $Y(II)$ (рис. 2А), но не влияла на индукцию квантового выхода нефотохимического тушения флуоресценции [$Y(NPQ)$, рис. 2Б].

Сопоставляя результаты исследования фотохимического и нефотохимического тушения флуоресценции, можно предположить, что метаболиты *F. sporotrichioides* наряду с подавлением АТФ-

синтазы ингибируют реакцию фосфорилирования белков Lhcb2 в составе светособирающего комплекса ФСII, которые играют ключевую роль в нефотохимическом тушении флуоресценции (Pietrzykowska et al., 2014). *Trichoderma asperellum* контролирует только действие метаболитов *Fusarium sporotrichioides* на АТФ-синтазу.

Проведенные исследования подтвердили высказанное ранее заключение (Golovanova, Loginova, 2005), что *Trichoderma asperellum* посредством своих метаболитов стимулирует ростовые процессы в растениях, в том числе и необходимый для накопления биомассы рост листьев (фото ассимиляционного аппарата). Однако, положительное действие *T. asperellum* на ростовые процессы молодых растений пшеницы не сопровождается активацией нециклического транспорта электронов.

Авторы выражают благодарность д.б.н., профессору кафедры биотехнологии ФГАОУ ВО Первого Московского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова, Т.И. Громоных за предоставленный споровый материал гриба *Trichoderma asperellum* MG-97.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Barbosa M.A.G., Rehn K.G., Menezes M., Mariano Rde L. Antagonism of *Trichoderma* species on *Cladosporium herbarum* and their enzymatic characterization. Brazilian J. Microbiol. 2001. V. 32 (2). P. 98–104. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822001000200005>
- Bioregulation of microbial-plant systems. G.A. Iutynska, S.P. Ponomarenko (eds). Kyiv, 2010 (in Russ).
- Björkman O., Demming B. Photon yield of O_2 evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. Planta. 1987. V. 170 (4). P. 489–504. <https://doi.org/10.1007/BF00402983>
- Burkin A.A., Soboleva N.A., Kononenko G.P. Toxin production by *Fusarium poae* from cereal grain in East Siberia and Far East regions. Mikologiya i fitopatologiya. 2008. V. 42 (2). P. 354–358 (in Russ.).
- Duniway J.M., Slatyer R.O. Gas exchange studies on the transpiration and photosynthesis of tomato leaves affected by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Phytopathology. 1971. V. 61. P. 1377–1381. <https://doi.org/10.1094/Phyto-61-1377>
- El Komy M.H., Saleh A.A., Eranthodi A., Molan Y.Y. Characterization of novel *Trichoderma asperellum* isolates to select effective biocontrol agents against tomato *Fusarium* wilt. Plant Pathology. 2015. V. 31 (1). P. 50–60. <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.09.2014.0087>
- El-Hasan A., Walker F., Buchenauer H. *Trichoderma harzianum* and its metabolite 6-pentyl- α -pyrone suppress fusaric acid produced by *Fusarium moniliforme*. J. Phytopathol. 2008. V. 156 (2). P. 79–87. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2007.01330>
- Filimon R.V., Rotaru L., Filimon R.M. Quantitative investigation of leaf photosynthetic pigments during annual biological cycle of *Vitis vinifera* L. table grape cultivars. S. Afr. J. Enol. Vitic. 2016. V. 37 (1). P. 1–14. <https://doi.org/10.21548/37-1-753>

- Gagkayeva T.U., Gavrilova O.P., Levitin M.M., Novozhilov K.V. *Fusarium* of cereals. Zashchita i karantin rasteniy. 2011. N 5. P. 86–91 (in Russ.).
- Golovanova T.I., Timonina T.V. Effect of spores of fungus of the genus *Trichoderma* on tomatoes. Vestnik Krasnoyarskogo gosudarstvennogo universiteta. 2004. N 7. P. 48–53 (in Russ.).
- Golovanova T.I., Loginova Y.A. The reaction of the photosynthetic apparatus to the treatment of wheat plants with spores of the fungus of the genus *Trichoderma*. Vestnik Krasnoyarskogo gosudarstvennogo universiteta. 2005. N 5. P. 210–215 (in Russ.).
- Golovanova T.I., Dolinskaya Y.V., Sichkaruk Y.A. The relationship of soil fungus *Trichoderma* and spring wheat. Vestnik KrasGAU. 2009. N 7. P. 102–107 (in Russ.).
- Gomes E.V., Costa M.N., Paula R.G., Azevedo R.R., Silva F.L., Noronha E.F., Ulhoa C.J., Monteiro V.N., Cardoza R.E., Gutiérrez S., Silva R.N. The Cerato-Platanin protein Epl-1 from *Trichoderma harzianum* is involved in mycoparasitism, plant resistance induction and self cell wall protection. Sci. Rep. 2015. V. 5. P. 17998. <https://doi.org/10.1038/srep17998>
- GOST 12038-84. Agricultural seeds. Methods for determination of germination. Moscow, Standartinform, 2011 (in Russ.).
- GOST R 52471 – 2005. Feedstuffs. Immunoenzyme method of mycotoxin determination. Moscow, Standartinform, 2006 (in Russ.).
- Green B.R., Durnford D.G. The chlorophyll – carotenoid proteins of oxygenic photosynthesis. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 1996. V. 47. P. 685–714. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.47.1.685>
- Gromovikh T.I., Shmarlovskaya S.V., Tyulpanova V.A., Gromovikh V.S. Strain of the fungus *Trichoderma* sp. MG-97 used to protect conifer seedlings from fusariosis. Patent. 2001. № 2171580 (in Russ.).
- Gromovikh T.I., Litovka Yu.A., Gromovikh B.C., Makhova Ye.G. Effect of *Trichoderma asperellum* (strain MG 97) towards fusariosis of *Larix sibirica* seedlings. Mikologiya i fitopatologiya. 2002. V. 36 (4). P. 70–75 (in Russ.).
- Jassby A.D., Platt T. Mathematical formulation of the relationship between photosynthesis and light for phytoplankton. Limnol Oceanogr. 1976. V. 21 (4). P. 540–547. <https://doi.org/10.4319/lo.1976.21.4.0540>
- Kitajima M., Butler W.L. Quenching of chlorophyll fluorescence and primary photochemistry in chloroplasts by dibromo-thymoquinone. Biochem. Biophys. Acta. 1975. V. 376. P. 105–115. [https://doi.org/10.1016/0005-2728\(75\)90209-1](https://doi.org/10.1016/0005-2728(75)90209-1)
- Kitajima K., Hogan K.P. Increases of chlorophyll *a/b* ratios during acclimation of tropical woody seedlings to nitrogen limitation and high light. Plant, Cell and Environment. 2003. V. 26. P. 857–865. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2003.01017.x>
- Klein D., Eveleigh D.E. Ecology of *Trichoderma*. In: C.P. Kubicek, G.E. Harman (eds.) *Trichoderma* and *Gliocladium*. Basic biology, taxonomy and genetics. V. 1. London, Taylor and Francis Ltd., 1998. P. 57–73.
- Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology. 1987. V. 148. P. 350–382. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)
- Lorenzini G., Guidi L., Nali C., Ciompi S., Soldatini G.F. Photosynthetic response of tomato plants to vascular wilt diseases. Plant Science. 1997. V. 124. P. 143–152. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(97\)04600-1](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(97)04600-1)
- Matarese F., Sarrocco S., Gruber S., Seidl-Seiboth V., Vannacci G. Biocontrol of *Fusarium* head blight: interactions between *Trichoderma* and mycotoxigenic *Fusarium*. Microbiology. 2012. V. 158. P. 98–106. <https://doi.org/10.1099/mic.0.052639-0>
- Meera M.S., Shivanna M.B., Kageyama K., Hyakumachi M. Plant growth promoting fungi from Zoysiagrass rhizosphere as potential inducers of systemic resistance in cucumbers. Phytopathology. 1994. V. 84. P. 1399–1406. <https://doi.org/10.1264/jsme2.me10176>
- D'Mello J.P.F., Placinta C.M., Macdonald A.M.C. *Fusarium* mycotoxins: a review of global implications for animal health, welfare and productivity. Animal Feed Sci. Technol. 1999. V. 80. P. 183–205. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(99\)00059-0](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(99)00059-0)
- Mokronosov A.T. Endogenous regulation of photosynthesis in the whole plant. Fiziologiya rasteniy. 1978. V. 25 (5). P. 938–951 (in Russ.).
- Monastyrskiy O.A. Toxins of phytopathogenic fungi. Zashchita i karantin rasteniy. 1996. N 3. P. 12–14 (in Russ.).
- Mukherjee P.K., Kenerley Ch.M. Regulation of morphogenesis and biocontrol properties in *Trichoderma virens* by a Velvet Protein Vel1. Applied and environmental microbiology. 2010. V. 76 (7). P. 2345–2352. <https://doi.org/10.1128/AEM.02391-09>
- Pavlović D., Nikolić B., Đurović S., Waisi H., Anđelković A., Marisavljević D. Chlorophyll as a measure of plant health: Agroecological aspects. Pestic. Phytomed. V. 29 (1). 2014. P. 21–34. <https://doi.org/10.2298/PIF1401021P>
- Pietrzykowska M., Suorsa M., Semchonok D.A., Tikkanen M., Boekema E.J., Aro E.M., Jansson S. The light-harvesting chlorophyll *a/b* binding proteins Lhcb1 and Lhcb2 play complementary roles during state transitions in *Arabidopsis*. The Plant Cell. 2014. V. 26 (9). P. 3646–3660. <https://doi.org/10.1105/tpc.114.127373>
- Placinta C.M., D'Mello J.P.F., Macdonald A.M.C. A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with *Fusarium* mycotoxins. Animal feed science and technology. 1999. № 78. P. 21–37. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(98\)00278-8](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(98)00278-8)
- Pshibytko N.L., Zenevich L.A., Kabashnikova L.F. Changes in the photosynthetic apparatus during fusarium wilt of tomato. Fiziologiya rasteniy. 2006. V. 53 (1). P. 31–37 (in Russ.).
- Ritchie R.J. Fitting light saturation curves measured using modulated fluorometry. Photosynth Res. 2008. V. 96. P. 201–215. <https://doi.org/10.1007/s11120-008-9300-7>
- Saeed I.A.M., MacGuidwin A.E., Rouse D.I., Sharkey T.D. Limitation to photosynthesis in *Pratylenchus penetrans* and *Verticillium dahliae* infected potato. Crop Science. 1999. V. 39. P. 1340–1346. <https://doi.org/10.2135/cropsci1999.3951340x>
- Samuels G.J., Lieckfeldt E., Nirenberg H.I. *Trichoderma asperellum*, a new species with warted conidia, and redescription of *T. viride*. Sydowia. 1999. V. 51 (51). P. 71–88.

- Samuels G.J. *Trichoderma*: Systematics, the sexual state, and ecology. Phytopathology. 2006. V. 96. P. 195–206. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-0195>
- Samuels G.J., Ismaiel A., Bon M.C., De Respinis S., Petrini O. *Trichoderma asperellum* sensu lato consists of two cryptic species. Mycologia. 2010. V. 102 (4). P. 944–966. <https://doi.org/10.3852/09-243>
- Sayyad-Amin P., Jahansooz M.R., Borzouei A., Ajili F. Changes in photosynthetic pigments and chlorophyll-a fluorescence attributes of sweet-forage and grain sorghum cultivars under salt stress. J. Biol. Phys. 2016. V. 42. P. 601–620. <https://doi.org/10.1007/s10867-016-9428-1>
- Santos L., Lucio J., Odair J., Carneiro M.L., Alberto C. Symptomless infection of banana and maize by endophytic fungi impairs photosynthetic efficiency. New Phytol. 2000. V. 147. P. 609–615.
- Seyketov G.S.H. *Trichoderma* fungi and their use in practice. Alma-Ata, Nauka, 1982 (in Russ.).
- Shah S.H., Houborg R., McCabe M.F. Response of chlorophyll, carotenoid and SPAD-502 measurement to salinity and nutrient stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). Agronomy. 2017. V. 7 (61). P. 1–20. <https://doi.org/10.3390/agronomy7030061>
- Singh A., Shukla N., Kabadwal B.C., Tewari A.K., Kumar J. Review on plant – *Trichoderma*-pathogen interaction. Int. J. Current Microbiol. Appl. Sci. 2018. V. 7 (2). P. 2381–2397. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.702.291>
- Tian Y., Tan Y., Liu N., Yan Z., Liao Y., Chen J., de Saeger S. Detoxification of deoxynivalenol via glycosylation represents novel insights on antagonistic activities of *Trichoderma* when confronted with *Fusarium graminearum*. Toxins. 2016. V. 8 (11). P. 335. <https://doi.org/10.3390/toxins8110335>
- Tsavkelova E.A., Klimova S.Y., Cherdyntseva T.A. and Netrusov A.I. Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: A review. Applied Biochem. Microbiol. 2006. V. 42. P. 117–126.
- Van Loon L.C. Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. Plant Pathology. 2007. V. 119. P. 243–254. <https://doi.org/10.1007/s10658-007-9165-1>
- Weindling R. *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. Phytopathology. 1932. V. 22. P. 837–845.
- Wintermans I.F., Mols A. Spectrophotometric characteristics of chlorophylls a and b and their pheophytins in ethanol. Biochim Biophys Acta. 1965. V. 109. P. 448–453. [https://doi.org/10.1016/0926-6585\(65\)90170-6](https://doi.org/10.1016/0926-6585(65)90170-6)
- Wu H.-Sh., Bao W., Liu D.-Y., Ling N., Ying R.-R., Raza W., Shen Q.-R. Effect of fusaric acid on biomass and photosynthesis of water-melon seedlings leaves. Caryologia. 2008. V. 61 (3). P. 258–268. <https://doi.org/10.1080/00087114.2008.10589638>
- Xing W., Wang J., Liu H., Zou D., Zhao H. Influence of natural saline-alkaliness on chlorophyll content and chloroplast ultrastructure of two contrasting rice (*Oryza sativa* L. japonica) cultivars. Australian journal of Crop Science. 2013. V. 7 (2). P. 289–292.
- Yedidia I., Srivastva A.K., Kapulnik Y., Chet I. Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. Plant and Soil. 2001. V. 235 (2). P. 235–242.
- Yedidia I., Shores M., Kerem Z., Benhamou N., Kapulnik Y., Chet I. Concomitant induction of systemic resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* in cucumber by *Trichoderma asperellum* (T-203) and accumulation of phytoalexins. Applied Envir. Microbiol. 2003. V. 69 (12). P. 7343–7353. <https://doi.org/10.1128/aem.69.12.7343-7353.2003>
- Биорегуляция микробно-растительных систем (Bio-regulation). Под ред. Г.А. Иутинской, С.П. Пономаренко. Киев: Ничлава, 2010. 472 с.
- Буркин А.А., Соболева Н.А., Кононенко Г.П. (Burkin et al.). Токсикообразующая способность штаммов *Fusarium* роае из зерна хлебных злаков Восточно-Сибирского и Дальневосточного регионов // Микология и фитопатология. 2008. Т. 42. № 2. С. 354–358.
- Гагкаяева Т.Ю., Гаврилова О.П., Левитин М.М., Новожилов К.В. (Gagkayeva et al.) Фузариоз зерновых культур // Защита и карантин растений. 2011. № 5. 54 с.
- Голованова Т.И., Тимонина Т.В. (Golovanova, Timonina) Влияние спор гриба рода *Trichoderma* на томаты // Вестник Красноярского государственного университета. 2004 (7). С. 48–53.
- Голованова Т.И., Логинова Е.А. (Golovanova, Loginova) Реакция фотосинтетического аппарата на обработку растений пшеницы спорами гриба рода *Trichoderma* // Вестник Красноярского государственного университета. 2005 (5). С. 210–215.
- Голованова Т.И., Долинская Е.В., Сичкарук Е.А. (Golovanova et al.) Взаимоотношения почвенного гриба *Trichoderma* и яровой пшеницы // Вестник КрасГАУ. Красноярск. 2009. № 7. С. 102–107.
- ГОСТ 12038-84 (GOST). Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. М.: Стандартинформ. 2011. 30 с.
- ГОСТ Р 52471 – 2005 (GOST R). Корма. Иммуноферментный метод определения микотоксинов. М.: Стандартинформ. 2006. 12 с.
- Громовых Т.И., Шмарловская С.В., Тюльпанова В.А., Громовых В.С. (Gromovykh et al) Штамм гриба *Trichoderma* sp. МГ-97, используемый для защиты семян хвойных от фузариозов // Патент на изобретение № 2171580. М. 10.08.2001. 13 с.
- Громовых Т.И., Литовка Ю.А., Громовых В.С., Махова Е.Г. (Gromovykh et al.) Эффективность действия *Trichoderma asperellum* (штамм МГ 97) на развитие фузариоза на сеянцах *Larix sibirica* // Микология и фитопатология. 2002. Т. 36. № 4. С. 70–75.
- Мокронос А.Т. (Mokronosov). Эндогенная регуляция фотосинтеза в целом растении // Физиология растений. 1978. Т. 25. Вып. 5. С. 938–951.
- Монастырский О.А. (Monastyrskiy). Токсины фитопатогенных грибов // Защита и карантин растений. 1996. № 3. С. 12–14.
- Пишбытко Н.Л., Зеневич Л.А., Кабашникова Л.Ф. (Pshibytko et al.) Состояние фотосинтетического аппарата в процессе фузариозного увядания томата // Физиология растений. 2006. Т. 54. № 4. С. 31–37.
- Сейкетов Г.Ш. (Seyketov) Грибы рода триходерма и их использование в практике. Алма-Ата: Наука, 1982. 246 с.

The Influence of *Trichoderma asperellum* Spores and Metabolites of *Fusarium sporotrichioides* on Wheat Growth Processes and Photosynthetic Apparatus

T. I. Golovanova^{a, #}, N. A. Gaevsky^a, A. F. Valiulina^a, and Yu. A. Litovka^a

^a Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russia

[#]e-mail: tigolovanova@mail.ru

The effect of micromycetes (*Trichoderma asperellum* MG-97, *Fusarium sporotrichioides* Z3-06 strains) on the physiological parameters of young wheat plants (*Triticum aestivum*) was studied. *Trichoderma asperellum* spores increased laboratory seed germination and plant growth on days 10 and 30 of the plant growing. At the same time, the leaf area, the weight of the aerial parts of the plants, and the mass of the roots were increased. The effect of fungal spores on content of green pigments was insignificant. Effect of spores on the amount of green pigment was negligible. The metabolites of *Fusarium sporotrichioides*, on the contrary, influenced most of the listed indicators of wheat negatively. The exception concerns green pigments, whose the content in the leaves has increased. With the joint action of *Trichoderma asperellum* spores and *Fusarium sporotrichioides* metabolites, growth rates were similarly to control, however, seed germination and germination energy were suppressed. Leaf fluorescence was recorded by the RAM-technique in the “fast light curve” and “induction curve” protocol showed: 1 – the positive effect of *Trichoderma asperellum* on the growth processes of young wheat plants is not accompanied by the activation of non-cyclic electron transport; 2 – the metabolites of *Fusarium sporotrichioides* with the suppression of ATP synthase simultaneously inhibit the phosphorylation of Lhcb2 proteins in the composition of the light-harvesting complex PSII, which plays a key role in the non-photochemical quenching of fluorescence; 3 – *Trichoderma asperellum* controls only the effect of *Fusarium sporotrichioides* metabolites on ATP synthase.

Key words: *Fusarium*, growth processes, light curves, micromycetes, pigments, quantum yield, *Trichoderma*