

## АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТНОГО ЦЕЛЮЛОЗОЛІТИЧНОГО КОМПЛЕКСУ ТА АНТАГОНІСТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ *TRICHODERMA HARZIANUM* 128

С. Б. Дімова, С. М. Деркач, В. В. Волкогон

Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН  
вул. Шевченка, 97; м. Чернігів, 14035, Україна; e-mail: dimova13@ukr.net

**Мета.** Дослідити активність ферментів целюлозолітичного комплексу асоціації мікроміцетів *Trichoderma harzianum* 128 та їхню антагоністичну активність; вивчити можливість впливу інтродукції грибів до компостованого субстрату на швидкість компостування та якість компостів. **Методи.** Мікробіологічні (для вироцнення мікроміцетів у живильних середовищах, обліку чисельності *T. harzianum* 128 та визначення антагоністичної активності асоціації), агрохімічні (для визначення особливостей компостування субстратів на основі курячого посліду та вмісту в них Карбону і Нітрогену), біохімічні (дослідження активності целюлозолітичних ферментів), виробничої перевірки (на базі ТОВ «Агрофірма КОЛОС», Київська обл.). **Результати.** Асоціація мікроміцетів *T. harzianum* 128 характеризується високою активністю екзоглюканази, ендоглюканази та  $\beta$ -глюкозидази, що сприяє за інтродукції грибів до субстрату на основі курячого посліду скороченню термінів компостування органічної речовини. *T. harzianum* 128 має виражені антифунгальні властивості щодо збудників окремих захворювань сільськогосподарських культур (*Fusarium oxysporum*, *F. culmorum*, *Nigrospora oryzae*). Збагачення компостованих субстратів дослідженими мікроміцетами забезпечує активний їх розвиток (до 8150 тис. КУО/г сухого компосту), акумуляцію в компості Карбону і Нітрогену, що покращує якість кінцевого продукту. **Висновки.** Асоціація мікроміцетів *T. harzianum* 128 характеризується високою активністю ферментів целюлозолітичного комплексу, має виражену антагоністичну активність щодо збудників окремих захворювань сільськогосподарських культур. Інтродукція *T. harzianum* 128 до компостованих субстратів на основі курячого посліду забезпечує скорочення термінів компостування та покращення якості кінцевого продукту, що може сприяти зростанню продуктивності агроценозів у разі включення біодобрив до систем удобрення сільськогосподарських культур.

Ключові слова: *Trichoderma harzianum*, целюлозолітичні ферменти, антагоністична активність, пташиний послід, компостування, компости.

**Вступ.** Активний розвиток птахівництва в Україні супроводжується значним накопиченням відходів виробництва, зокрема посліду (на рівні 1,5 млн тон на рік). Пташиний послід є цінною сировиною, тож частина його використовується як добриво. Проте застосування свіжого посліду спричиняє низку негативних для довкілля наслідків. Так, оскільки більшість підприємств птахівничої галузі накопичують відходи у кар'єрах або в буртах, це спричиняє розвиток патогенної

мікробіоти в субстраті, що з точки зору як ветеринарії, так і гуманної медицини та гігієни є неприпустимим. Крім того, за цих умов відбувається забруднення ґрунтових вод сполуками Нітрогену. Розв'язати проблему можна шляхом розробки й впровадження технологій компостування пташиного посліду для отримання якісних органічних добрив [17].

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** Позитивний ефект від застосування

компостів зумовлено не лише накопиченням в ґрунті органічної речовини. За їх системного використання покращуються фізико-хімічні властивості ґрунтів: збільшуються запаси поживних речовин, оптимізується кислотність, покращується агрегатний стан [15]. З компостами у ґрунт потрапляє значна кількість корисних мікроорганізмів. Тому надзвичайно бажаним є отримання компостів із запрограмованими характеристиками, в т. ч. і за показником складу угруповань мікроорганізмів [13]. Перспективним може бути покращення продукту за інтродукції до субстрату мікроорганізмів, здатних прискорити процес компостування, а також представників мікробіоти, які є корисними для розвитку рослин. Такий спосіб може не лише забезпечити утилізацію відходів, а й дозволить отримати ефективні та безпечні біоорганічні добрива, збагачені корисними мікроорганізмами та фізіологічно активними речовинами. Важливими з цього погляду є мікроміцети роду *Trichoderma*. Окремі представники цієї таксономічної групи мають цінні агрономічні властивості, зокрема, вони є потужними біодеструкторами целюлози та лігніну, володіють антагоністичними властивостями до низки збудників захворювань культурних рослин та є продуцентами фітогормонів [9–11; 18; 19].

Нами раніше за ознакою активної мінералізації целюлози в лабораторних умовах селекціоновано асоціацію мікроміцетів *Trichoderma harzianum* 128, яка містить два штами (відповідно, *T. harzianum* 128/1 і *T. harzianum* 128/2). В асоціації кількість обох штамів приблизно однакова, та, що важливо, співвідношення їх не змінюється за різних умов культивування [2]. Селекціоновані мікроміцети є потужними продуцентами фітогормонів [12]. Проте не до кінця з'ясованими залишаються питання складу й активності целюлозолітичного ферментного комплексу селекціонованої асоціації та її антагоністичної (до збудників захворювань сільськогосподарських культур) активності.

**Мета досліджень** — визначити активність целюлозолітичних ферментів та антифунгальну активність асоціації *T. harzianum* 128.

**Матеріали та методи. Дослідження активності ферментів целюлозолітичного комплексу *T. harzianum* 128.** Визначення ак-

тивності целюлозолітичного ферментного комплексу асоціації *T. harzianum* 128 та її складових (штамів *T. harzianum* 128/1 і *T. harzianum* 128/2) здійснювали відповідно до наявних методик та рекомендацій [6; 7].

Для порівняння використовували відомий штам *T. harzianum* F-2455, люб'язно наданий Депозитарієм мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України.

Для визначення ферментативної активності гриби культивували в пробірках за температури 26 °С на рідкому модифікованому середовищі Чапека такого складу (г/л):  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  — 2,0;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  — 1,0;  $\text{MgSO}_4$  — 0,5;  $\text{KCl}$  — 0,5;  $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  — 0,001, де єдиним джерелом вуглецю були фільтрувальний папір (Фільтрак, Німеччина), 8,0 г/л або подрібнена солома пшениці ярої, 25,0 г/л (що за вмістом целюлози еквівалентно 8,0 г/л фільтрувального паперу). рН середовища — 7,0. Супернатант (культуральну рідину) отримували шляхом центрифугування спорово-міцеліальної суспензії (5000 г) 25 хв.

Вимірювання целюлозолітичної активності проводили з інтервалом у чотири дні протягом 3 тижнів культивування.

Для дослідження екзоглюканазної активності до 50 мг авіцелу (мікрористалічна целюлоза, «Евалар») додавали 1 мл супернатанту, 1 мл 0,05 М натрій-цитратного буферу та інкубували суміш протягом 1 год. ( $t = 40$  °С).

Ендоглюканазну активність визначали за дії фермента на Na-карбоксиметилцелюлазу («Sigma»): 1 мл 0,5 %-го розчину Na-КМЦ в 0,05 М натрій-цитратному буфері та 1 мл супернатанту інкубували протягом 30 хв. ( $t = 40$  °С).

Для визначення  $\beta$ -глюкозидазної (целобіазної) активності до 1 мл 0,025 %-го розчину целобіози («Merck») у 0,05 М натрій-цитратному буфері додавали 1 мл супернатанту та інкубували протягом 30 хв. ( $t = 40$  °С).

Для визначення загальної целюлозолітичної активності до 50 мг фільтрувального паперу («Фільтрак») додавали 1 мл супернатанту, 1 мл 0,05 М натрій-цитратного буферу та інкубували протягом 1 год. ( $t = 40$  °С).

Кількість редукуючих цукрів визначали за методом Шомоді-Нельсона в перерахунку на глюкозу. Калібрувальну криву будували

за стандартними розчинами глюкози. Кількість глюкози для визначення  $\beta$ -глюкозидазної активності встановлювали глюкозо-пероксидазним методом. Активність целюлозолітичних ферментів позначали в міжнародних одиницях (IU), які відповідають такій кількості ферменту, що каталізує утворення 1 мкмоль редуруючих цукрів (або 1 мкмоль глюкози) за 1 хв. інкубування [6; 7].

Антагоністичні властивості грибів вивчали методом зустрічних культур [3; 6]. Визначення антагоністичних властивостей асоціації *T. harzianum* 128 проводили щодо представників родів *Fusarium* Link (збудники фузаріозного в'янення картоплі; кореневих гнилей люпину та гороху; фузаріозу люцерни та гороху; фузаріозної кореневої гнилі пшениці, фузаріозу колосу пшениці, вівса і тритикале) та *Nigrospora* Zimm. (збудник нігроспорозу кукурудзи і сорго). Так, зокрема, у дослідках визначали можливість антагоністичного впливу *T. harzianum* 128 щодо штамів *N. oryzae* 3000 і *F. culmorum* 50716, люб'язно наданих відділом фізіології і систематики мікроміцетів Інституту мікробіології і вірусології НАН України та до штаму *F. oxysporum*, люб'язно наданого лабораторією рослинно-мікробних взаємодій Інституту сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН. Для порівняння досліджували активність виробничого штаму *T. viride* F100001 (біологічний агент препарату Триходерміну).

**Компостування органічної речовини за інтродукції до субстратів *T. harzianum* 128.** У модельних дослідках з компостування курячого посліду використовували пластикові контейнери, у які поміщали по 5 кг курячого посліду. З метою оптимізації співвідношення C : N у субстраті на рівні 20 : 1 до посліду додавали 0,7 кг подрібненої соломи та 1,9 кг торфу. Повторність дослідку — чотирихразова. У процесі компостування підтримували вологість субстрату на рівні від 70 % до 75 %, перемішуючи його один раз на два тижні.

Протягом першого місяця суміш посліду, торфу та соломи компостували за вищеписаних умов, після чого вносили спорово-міцеліальну суспензію *T. harzianum* 128, яку отримували шляхом культивування мікроміцетів на сусло-агарі з подальшим змиванням водою. Отримана суспензія мала титр

$6,4 \times 10^6$  КУО/мл. Її вносили в кількості 2 % від маси сухої компостованої суміші (в перерахунку це становило 128 тис. КУО/г сухого субстрату). Для рівномірного розподілу мікроорганізмів у компостованій суміші інокулюм вносили з поливною водою.

Чисельність мікроміцетів у компостах визначали шляхом висіву водних розведень суспензій на середовище Чапека [3].

В одному з дослідів визначали інтенсивність розкладу соломи. У різні періоди, а саме з другого по сьомий місяць компостування, щомісячно відбирали зразки компостованого субстрату, поміщали у посудину з водою та перемішували. Після цього з поверхні знімали рештки соломи, а напіврозкладені залишки вимивали з субстрату з допомогою сита з діаметром отворів 0,25 мм. Об'єднані фракції рослинних решток висушували до постійної маси, зважували і розраховували вміст щодо початкової маси соломи. Інтенсивність розкладання соломи у дослідних варіантах порівнювали з контролем (без інтродукції асоціації *T. harzianum* 128).

Апробацію оптимізованого варіанту компостування курячого посліду проводили в умовах виробничого дослідку у ТОВ «Агрофірма КОЛОС» (Київська обл., Сквирський р-н). Дослід передбачав компостування 200 тонн курячого посліду, оптимізованого за співвідношенням вуглецю й азоту, за участю асоціації *T. harzianum* 128. Спорово-міцеліальний інокулянт отримували шляхом вирощування грибів на зерні вівса. Водночас одержаний титр мікроорганізмів становив  $5,0 \times 10^8$  КУО/г зерна. Інокулянт (52,6 кг) вносили до компостованого субстрату під час перемішування аератором РТ-120. У перерахунку на 1 г сухого субстрату забезпеченість триходермою складала 135 тис. КУО.

Вміст вуглецю й азоту в субстратах визначали на початку й наприкінці періоду компостування традиційними агрохімічними методами [8].

**Статистична обробка результатів.** Статистичну обробку результатів проводили за використання дисперсійного аналізу й комп'ютерної програми Microsoft Office Excel 2003–2010.

**Результати та їх обговорення.** Як відомо, здатність мікроорганізмів до синтезу екзоглюканаз вказує на їхній високий целю-

лозолітичний потенціал [1; 5]. Одержані результати (рис. 1 і 2) свідчать, що найвищі показники екзоглюканазної активності спостерігали на 14-у добу за культивування мікроміцетів як на фільтрувальному папері, так і на пшеничній соломі: для *T. harzianum* F-2455 — 0,122 та 0,041 IU/ml, для асоціації *T. harzianum* 128 — 0,213 та 0,194 IU/ml, для *T. harzianum* 128/1 — 0,163 та 0,152 IU/ml, для *T. harzianum* 128/2 — 0,090 та 0,072 IU/ml відповідно.

Ендоглюканаза забезпечує розклад аморфних форм целюлози до целобіози [1]. За культивування грибів на середовищі з фільтру-

вальним папером найвищу ендоглюканазну активність відзначали на 10-у добу, відповідно, показники становили: для *T. harzianum* F-2455 — 0,184 IU/ml, для асоціації *T. harzianum* 128 — 0,331 IU/ml, для *T. harzianum* 128/1 — 0,282 IU/ml, для *T. harzianum* 128/2 — 0,194 IU/ml (рис. 3).

Максимум ендоглюканазної активності за використання пшеничної соломи як єдиного джерела вуглецю спостерігали на 14-у добу (рис. 4): для *T. harzianum* F-2455 — 0,174 IU/ml, для асоціації *T. harzianum* 128 — 0,250 IU/ml, для *T. harzianum* 128/1 — 0,213 IU/ml, для *T. harzianum* 128/2 — 0,172 IU/ml.

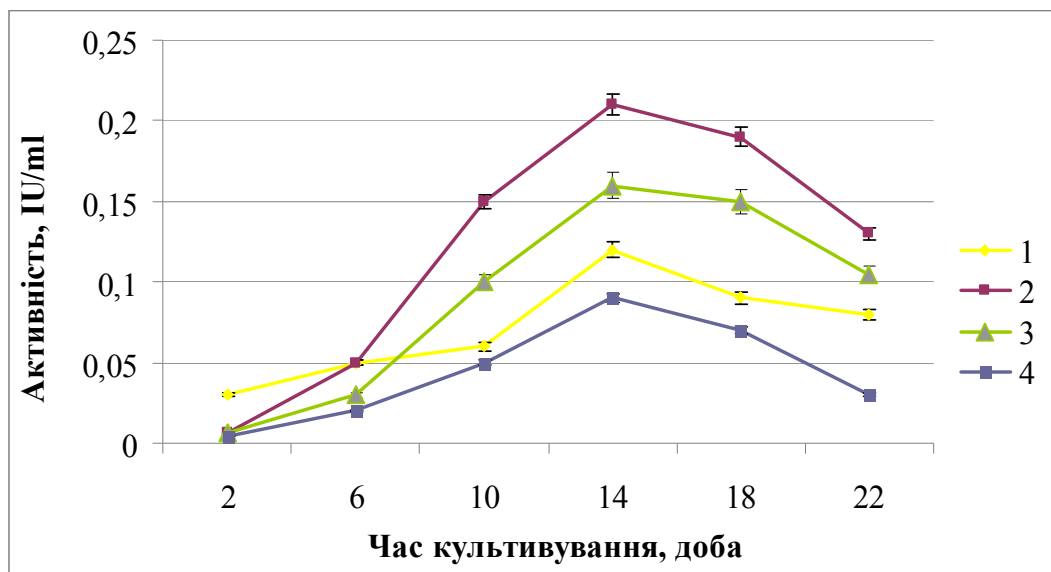


Рис. 1. Екзоглюканазна активність грибів (за використання фільтрувального паперу): 1 — *T. harzianum* F-2455; 2 — асоціація *T. harzianum* 128; 3 — *T. harzianum* 128/1; 4 — *T. harzianum* 128/2.

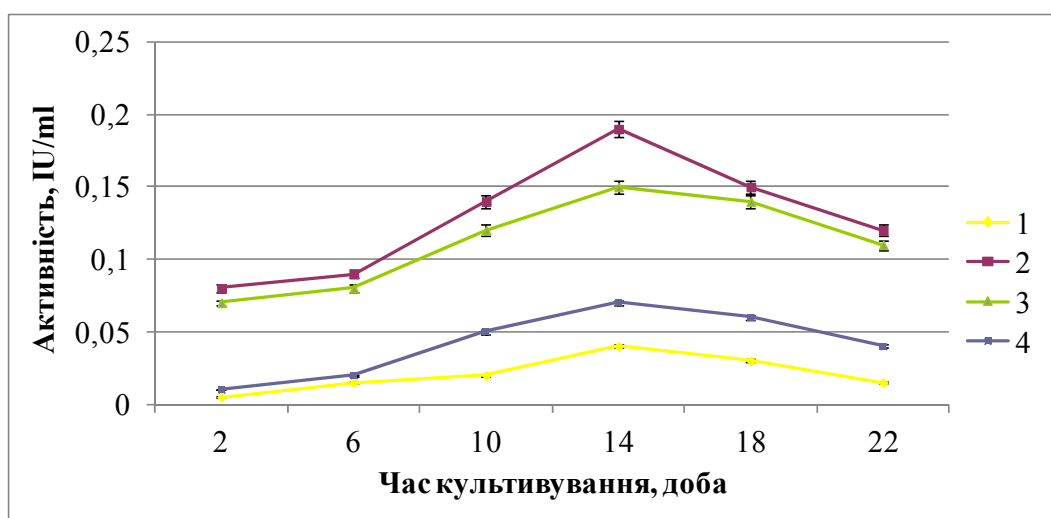


Рис. 2. Екзоглюканазна активність грибів (за використання пшеничної соломи): 1 — *T. harzianum* F-2455; 2 — асоціація *T. harzianum* 128; 3 — *T. harzianum* 128/1; 4 — *T. harzianum* 128/2.

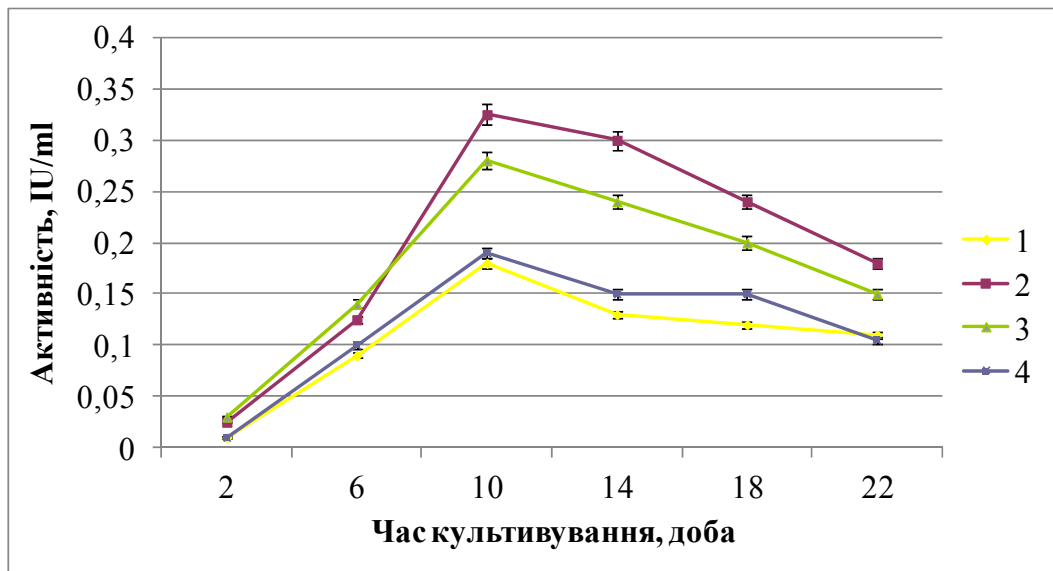


Рис. 3. Ендоглюканазна активність грибів (за використання фільтрувального паперу): 1 — *T. harzianum* F-2455; 2 — асоціація *T. harzianum* 128; 3 — *T. harzianum* 128/1; 4 — *T. harzianum* 128/2.

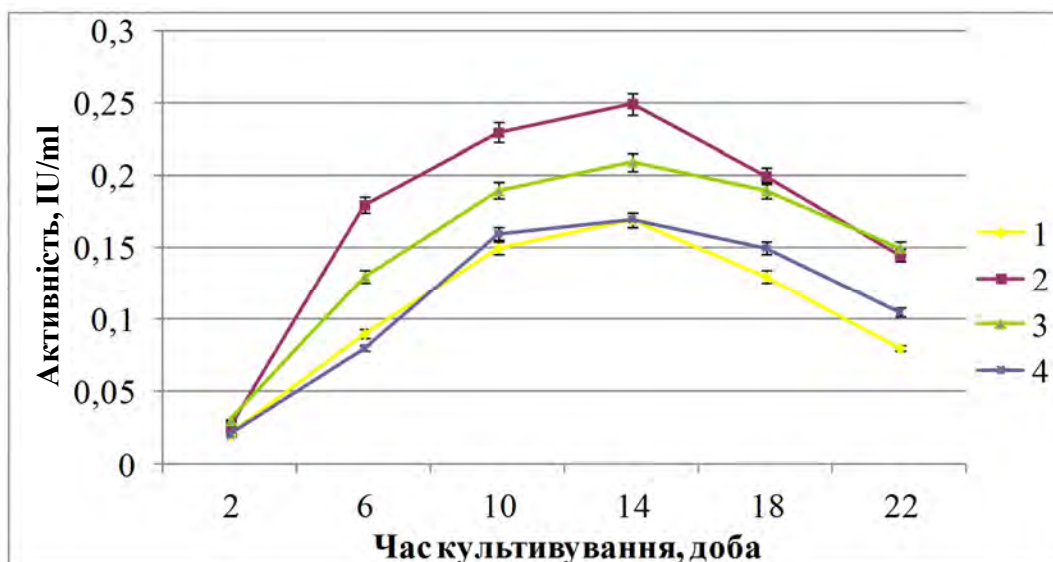


Рис. 4. Ендоглюканазна активність грибів (за використання пшеничної соломи): 1 — *T. harzianum* F-2455; 2 — асоціація *T. harzianum* 128; 3 — *T. harzianum* 128/1; 4 — *T. harzianum* 128/2.

Ендоглюканаза й екзоглюканаза забезпечують первинний етап розкладу целюлози. Одним із продуктів її деградації є целобіоза, яка за дії ферменту  $\beta$ -глюкозидази гідролізується до глюкози [4]. На відміну від ендо- і екзоглюканазної активності,  $\beta$ -глюкозидазна активність досліджуваних грибів була вищою за їх культивування на середовищі з пшеничною соломою, ніж з фільтрувальним папером. Максимальні значення активності спостерігали на 14-у добу: для *T. harzianum* F-2455 — 0,070 та 0,094 IU/ml, для асоціації *T. harzianum* 128 — 0,182 та 0,291 IU/ml, для

*T. harzianum* 128/1 — 0,173 та 0,250 IU/ml, для *T. harzianum* 128/2 — 0,133 та 0,154 IU/ml відповідно (рис. 5 і 6).

Досліджено також загальну целюлазну активність мікроміцетів, яка є інтегральним показником ефективності целюлазного комплексу [4]. Отримані дані вказують на її найвищий прояв, що становив для *T. harzianum* F-2455 — 0,122 та 0,090 IU/ml, для асоціації *T. harzianum* 128 — 0,330 та 0,313 IU/ml, для *T. harzianum* 128/1 — 0,281 та 0,232 IU/ml, для *T. harzianum* 128/2 — 0,190 та 0,164 IU/ml відповідно (рис. 7 і 8).

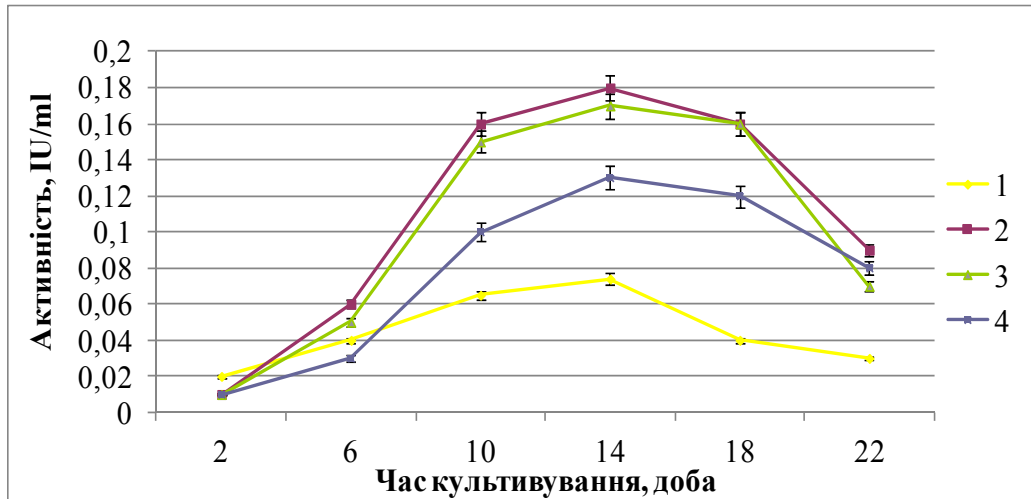


Рис. 5.  $\beta$ -глюкозидазна активність грибів (за використання фільтрувального паперу): 1 — *T. harzianum* F-2455; 2 — асоціація *T. harzianum* 128; 3 — *T. harzianum* 128/1; 4 — *T. harzianum* 128/2.

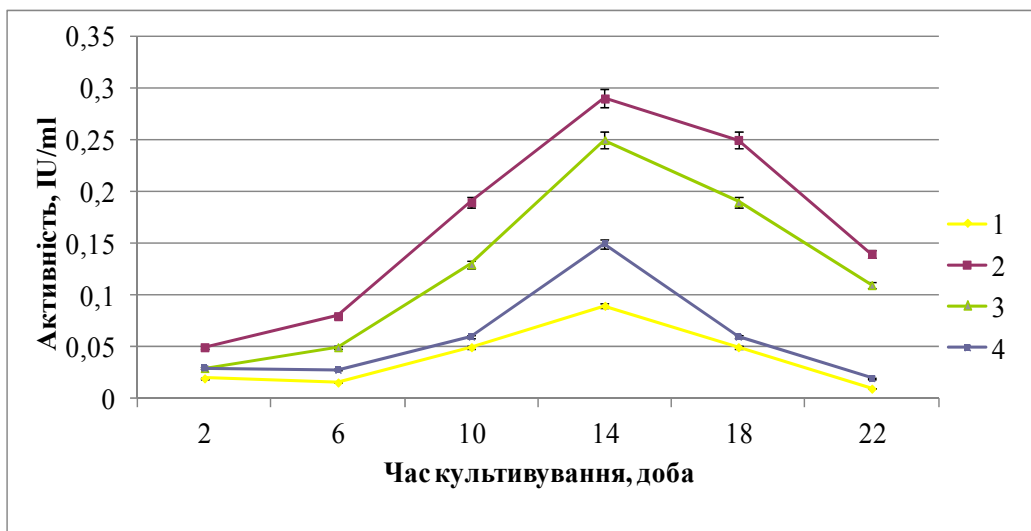


Рис. 6.  $\beta$ -глюкозидазна активність грибів (за використання пшеничної соломи): 1 — *T. harzianum* F-2455; 2 — асоціація *T. harzianum* 128; 3 — *T. harzianum* 128/1; 4 — *T. harzianum* 128/2.

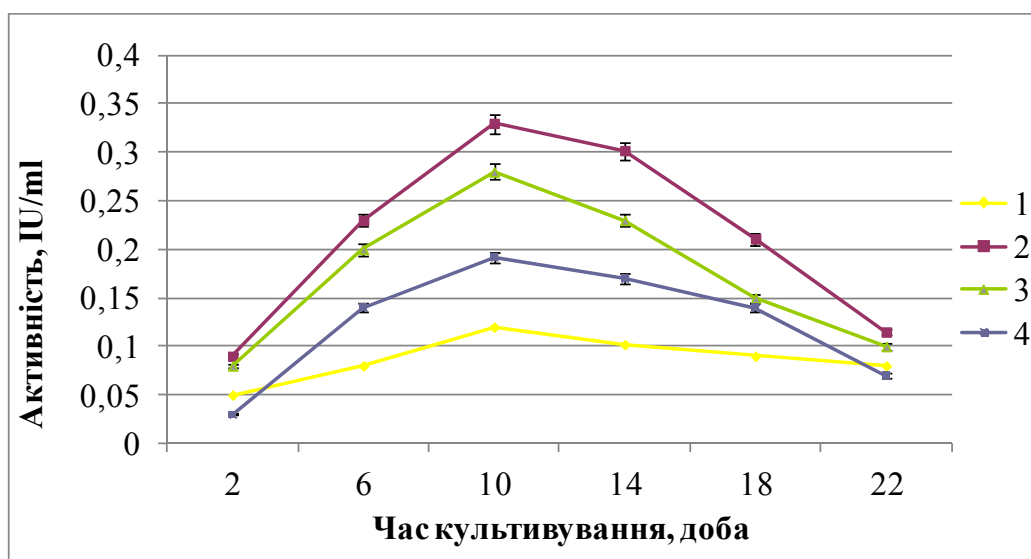


Рис. 7. Загальна целюлазна активність грибів (фільтрувальний папір): 1 — *T. harzianum* F-2455; 2 — асоціація *T. harzianum* 128; 3 — *T. harzianum* 128/1; 4 — *T. harzianum* 128/2.

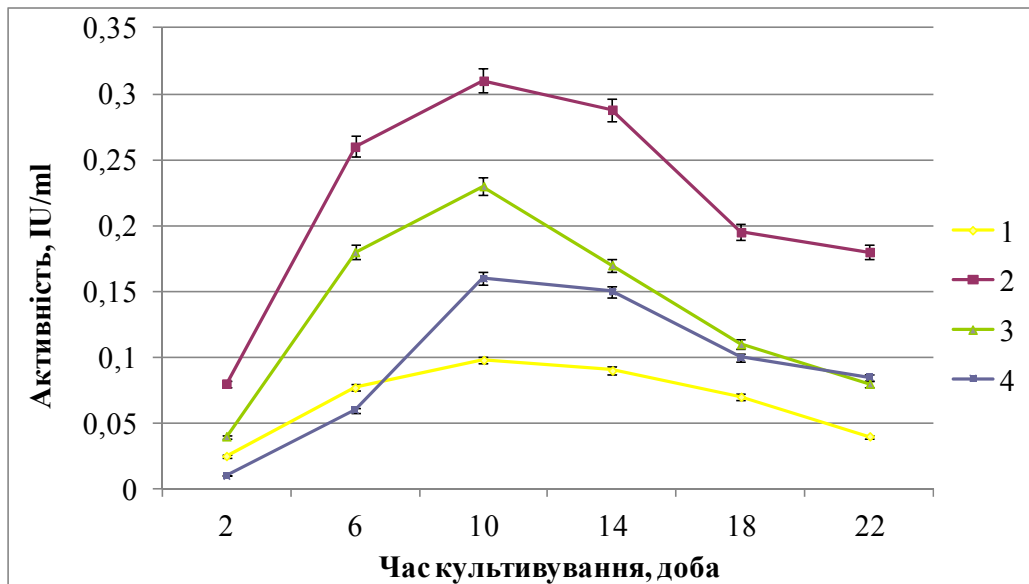


Рис. 8. Загальна целюлазна активність грибів (пшенична солома): 1 — *T. harzianum* F-2455; 2 — асоціація *T. harzianum* 128; 3 — *T. harzianum* 128/1; 4 — *T. harzianum* 128/2.

Отже, асоціація грибів *T. harzianum* 128 здатна до синтезу низки целюлозолітичних ферментів. Варто відзначити синергічну взаємодію штамів мікроміцетів, що входять до складу асоціації. Про вищі показники активності ферментів целюлозолітичного комплексу за поєднання кількох штамів мікроорганізмів відомо також і з інших публікацій [16].

Отримані результати також свідчать про високу антагоністичну активність *T. harzianum* 128 до *N. oryzae* 3000 (рис. 9), *F. oxysporum* (рис. 10) та *F. culmorum* 50716 (рис. 11), що є важливою передумовою створення технологій компостування органічної речовини для отримання компостів, які, крім належних агрохімічних характеристик, характеризуватимуться комплексом цінних властивостей, зокрема й здатністю обмежувати розвиток фітопатогенів.

Варто зазначити, що антагоністична активність (щодо збудників захворювань сільськогосподарських культур) асоціації мікроміцетів *T. harzianum* 128 вища за показники штаму *T. viride* F100001, який є біологічною основою відомого препарату Триходерміну (табл. 1).

Отже, поряд із встановленою нами раніше властивістю асоціації *T. harzianum* 128 активно продукувати фітогормони [12] зазначені особливості можуть позитивно впливати на накопичення в компостованих субстратах значної кількості інших вторинних метаболітів, що підвищить цінність отримуваних біодобрив.

Як відомо, пташиний послід є потужним джерелом Нітрогену, який перебуває переважно у формі сечової кислоти, що швидко розкладається з утворенням аміаку та спричиняє значні його втрати під час традицій-

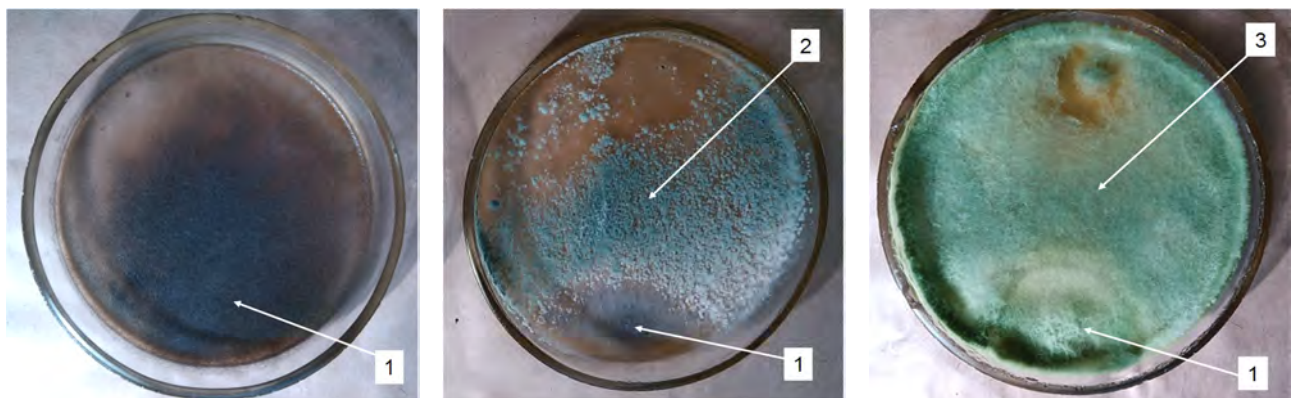


Рис. 9. Вплив грибів роду *Trichoderma* на розвиток *N. oryzae* 3000: 1 — *N. oryzae* 3000; 2 — *T. viride* F100001; 3 — *T. harzianum* 128.

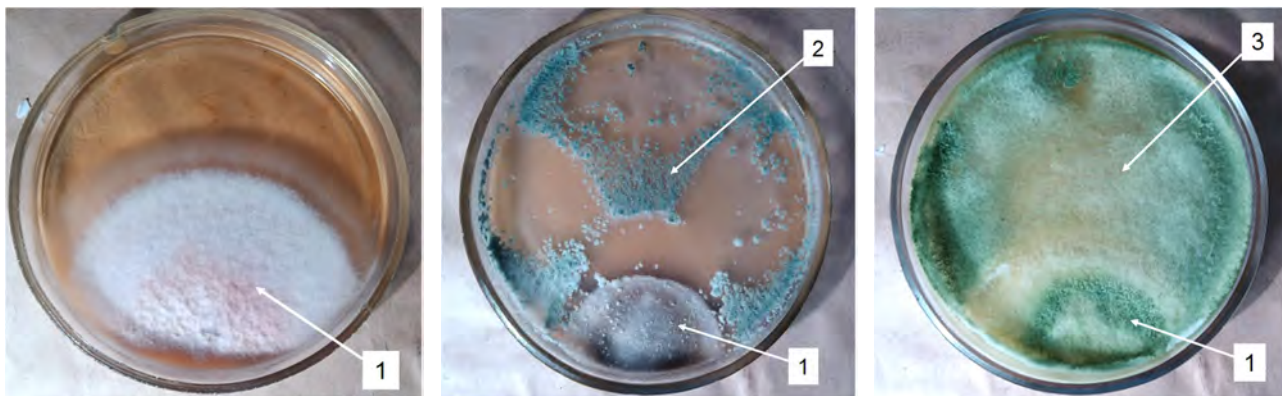


Рис. 10. Вплив грибів роду *Trichoderma* на розвиток *F. oxysporum*: 1 — *F. oxysporum*; 2 — *T. viride* F100001; 3 — *T. harzianum* 128.

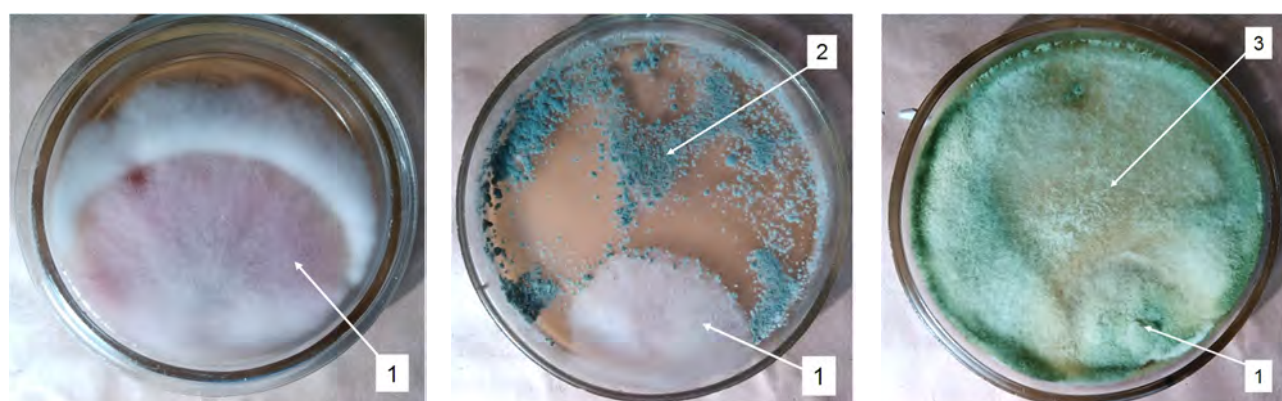


Рис. 11. Вплив грибів роду *Trichoderma* на розвиток *F. culmorum* 50716: 1 — *F. culmorum* 50716; 2 — *T. viride* F100001; 3 — *T. harzianum* 128.

Таблиця 1. Антагоністична активність мікроміцетів

Фітопатогенні мікроміцети	Бал	Тип реакції
<i>T. viride</i> F100001		
<i>N. oryzae</i> 3000	4	D
<i>F. oxysporum</i>	4	D
<i>F. culmorum</i> 50716	4	D
<i>T. harzianum</i> 128		
<i>N. oryzae</i> 3000	5	E
<i>F. oxysporum</i>	5	E
<i>F. culmorum</i> 50716	5	E

Примітка: D — пригнічення одного організму у разі контакту: антагоніст обростає колонію організму, що пригнічується; E — пригнічення одного організму у разі контакту: антагоніст продовжує рости з тією ж або меншою швидкістю поверх колонії організму, що пригнічується.

ного зберігання посліду [14]. Іноді втрати азоту за 1,5–2 місяці складають більш ніж 50 %. Для зменшення цих втрат та одержання якісного органічного добрива ми поєднали послід з торфом і соломою за дотримання

співвідношення С : N у субстраті на рівні 20 : 1 і дослідили вплив *T. harzianum* 128 як на інтенсивність деструкції соломи, так і на вміст Нітрогену і Карбону в субстраті.

Отримані результати свідчать (табл. 2), що починаючи з 3-го місяця компостування (часу, коли інтенсивно розвивається інтродукований мікроорганізм) у компостованому з асоціацією *T. harzianum* 128 субстраті інтенсивність розкладу соломи значно (у 1,8–2,5 раза) перевищувала контрольні показники.

Наприкінці 8-го місяця компостування субстрат з інтродукованою асоціацією грибів характеризувався розкладом органічної речовини на рівні 100 %. У контрольному варіанті мінералізація соломи на цей час не була завершеною.

Як свідчать отримані результати, за інтродукції асоціації *T. harzianum* 128 до субстрату на основі пташиного посліду вміст загального Карбону в готовому компості був вищим, ніж у контролі (табл. 3). Втрати сполук Нітрогену за інтродукції асоціації *T. harzianum* 128 також є суттєво меншими проти контрольного варіанту (табл. 3).



Таблиця 2. Інтенсивність розкладання соломи у компостованому субстраті за інтродукції мікроорганізмів, %

Варіанти дослідів	Місяці компостування						
	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Без інтродукції мікроорганізмів (контроль)	5,1	11,6	22,4	34,8	42,7	54,3	60,4
За інтродукції <i>T. harzianum</i> 128	5,1	24,5	57,3	71,2	83,5	98,1	100,0
НІР <sub>05</sub>	0,2	0,5	1,3	3,8	3,9	4,5	4,0

Таблиця 3. Вміст Карбону і Нітрогену в компості залежно від умов компостування, %

Варіанти дослідів	Початковий субстрат		Готовий компост	
	C	N	C	N
Без інтродукції мікроорганізмів (контроль)	47,21	3,25	38,30	1,98
За інтродукції асоціації <i>T. harzianum</i> 128	47,21	3,25	42,74	2,23
НІР <sub>05</sub>	1,80	0,16	1,52	0,11

Отже, інтродукція асоціації *T. harzianum* 128 до компостованого субстрату сприяє скороченню термінів компостування та зростанню рівнів акумулювання Карбону і Нітрогену в компості, що підвищує його агрономічну цінність.

Ефективність визначених у лабораторії технологічних аспектів компостування перевірено у виробничому досліді. Встановлено, що чисельність інтродукованих мікроміцетів збільшується із 135 тис. КУО/г до 8150 тис. КУО/г сухого компосту. Водночас значною мірою вдається уникнути втрат Карбону і Нітрогену (табл. 4).

Оскільки інтенсифікація процесу компостування органічної речовини супроводжується накопиченням у компості інтродукова-

ної асоціації, це може сприяти накопиченню в компості вторинних метаболітів мікроорганізмів.

Теоретично отримані компости можуть характеризуватися значним антифунгальним потенціалом унаслідок розвитку в субстратах інтродукованих мікроскопічних грибів, що сприятиме оздоровленню ґрунтів агроценозів за застосування таких компостів у технологіях вирощування сільськогосподарських культур. Проте це питання потребує додаткових досліджень.

Інтенсивний розвиток інтродукованих мікроорганізмів у компостованому субстраті може супроводжуватися накопиченням позаклітинних фізіологічно активних речовин, що є потенційно важливим для покращення

Таблиця 4. Вплив інтродукції *T. harzianum* 128 на якісні показники компосту (виробничий дослід)

Варіанти дослідів	Вміст Карбону, %		Вміст Нітрогену, %		Чисельність <i>T. harzianum</i> 128, тис. КУО/г сухого компосту	
	на початку дослідів	наприкінці дослідів	на початку дослідів	наприкінці дослідів	на початку дослідів	наприкінці дослідів
Без інтродукції мікроорганізмів (контроль)	45,1	36,2	3,04	1,77	не виявлено	не виявлено
За інтродукції <i>T. harzianum</i> 128	45,1	40,6	3,04	2,02	135±11	8150±620
НІР <sub>05</sub>	2,3	1,8	0,10	0,10		

росту й розвитку сільськогосподарських культур за використання збагачених компостів.

**Висновки.** Селекціонована асоціація *T. harzianum* 128 характеризується високою активністю ферментів целюлозолітичного комплексу та має чітко виражену антагоністичну активність щодо збудників окремих захворювань сільськогосподарських культур. Інтродукція консорціуму *T. harzianum* 128 до компостованих субстратів сприяє скороченню термінів компостування та покращенню якості кінцевого продукту, що може сприяти зростанню продуктивності агроценозів у разі введення біодобрив до систем удобрення сільськогосподарських культур.

#### ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Борзова Н. В., Варбанець Л. Д. Целюлозодеградуючі системи мікроорганізмів: біосинтез, властивості та структурно-функціональні особливості. *Біотехнологія*. 2009. Т. 2, № 2. С. 23–41.
2. Деркач С. М., М'ягка М. В., Волкогон В. В., Наконечна Л. Т., Дімова С. Б., Кравченко Н. О., Луценко Н. В. Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні особливості штамів мікроміцетів, що входять до складу асоціації *Trichoderma harzianum* 128. *Сільськогосподарська мікробіологія*. 2018. Вип. 28. С. 17–26. <https://doi.org/10.35868/1997-3004.28>
3. Експериментальна ґрунтова мікробіологія / За ред. В. В. Волкогона. К. : Аграрна наука, 2010. 464 с.
4. Жданова Н. М., Олішевська С. В., Василевська А. І., Айзенберг В. Л., Курченко І. М. Скринінг штамів мікроміцетів, що здатні рости та руйнувати целюлозовмісний субстрат. *Мікробіологія і біотехнологія*. 2008. № 3. С. 58–64.
5. Йовенко А. С. Целюлозолітична активність гриба-антагоніста *Chaetomium cochliodes*, біоагента мікробного препарату хетоміка. *Сільськогосподарська мікробіологія*. 2016. Вип. 24. С. 18–23. <https://doi.org/10.35868/1997-3004.24>
6. Методы экспериментальной микологии. Справочник / Под ред. В. И. Билай. К. : Наук. думка, 1982. 561 с.
7. Патица В. П., Копилов Є. П., Скуловатов О. В. Целюлозолітична активність ґрунтового гриба *Chaetomium globosum*. *Вісник Уманського національного інституту садівництва*. 2016. № 1. С. 28–30.
8. Фомин Г. С., Фомин А. Г. Почва. Контроль качества и экологической безопасности по международным стандартам. М. : Протектор, 2001. 304 с.
9. Bernal-Vicente A., Pascual J. A., Tittarelli F., Hernández J. A., Diaz-Vivancos P. *Trichoderma harzianum* T-78 supplementation of compost stimulates the antioxidant defence system in melon plants. *J Sci Food Agric*. 2015. Vol. 95 (11). P. 2208–2214. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6936>
10. Bernal-Vicente A., Ros M., Pascual J. A. Inoculation of *Trichoderma harzianum* during maturation of vineyard waste compost to control muskmelon *Fusarium* wilt. *BioResources*. 2012. Vol. 7(2). P. 1948–1960. <https://doi.org/10.15376/biores.7.2.1948-1960>
11. Blaya J., López-Mondéjar R., Lloret E., Pascual J. A., Ros M. Changes induced by *Trichoderma harzianum* in suppressive compost controlling *Fusarium* wilt. *Pestic Biochem Physiol*. 2013. Vol. 107(1). P. 112–119. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2013.06.001>
12. Derkach S. M., Volkohon V. V., Horban V. P. Exogenous physiologically active substances of *Trichoderma harzianum* 128 and their synthesis while introduction of micromycetes into composted substrate. *Сільськогосподарська мікробіологія*. 2019. Вип. 29. С. 37–45. <https://doi.org/10.35868/1997-3004.29.37-45>
13. Gautam S. P., Bundela P. S., Pandey A. K., Awasthi M. K., Sarsaiya S. Composting of municipal solid waste of Jabalpur city. *Global J Environ Res*. 2010. Vol. 4(1). P. 43–44.
14. Indriyati L. T. Chicken manure composts as nitrogen sources and their effect on the growth and quality of komatsuna (*Brassica rapa* L.). *J. ISSAAS*. 2014. Vol. 20(1). P. 52–63.
15. Kobierski M., Bartkowiak A., Lemanowicz J., Piekarczyk M. Impact of poultry manure fertilization on chemical and biochemical properties of soils. *Plant Soil Environ*. 2017. Vol. 63(12). P. 558–563. <https://doi.org/10.17221/668/2017-PSE>
16. Makhatov Z., Kedelbayev B., Lieberzeit P., Dzhakashyeva M., Elemanova Z., Abildayeva R., ... & Akhmedova Z. Biosynthesis of cellulase with *Trichoderma viride* and *Aspergillus awamori* micromycetes in co-cultivation. *Eur Asian Journal of BioSciences*. 2019. Vol. 13(2). P. 1521–1526.
17. Moore P. A., Daniel T. C., Sharpley A. N., Wood C. W. Poultry manure management: Environmentally sound options. *J Soil and Water Cons*. 1995. Vol. 3. P. 321–327.
18. Pascual J. A., Bernal-Vicente A., Martinez-Medina A., Ros M., Sánchez C. Biostimulant and suppressive effect of *Trichoderma harzianum* enriched compost for melon cultivation from greenhouse nursery to field production. *Acta Horticulturae*. 2017. Vol. 1164. P. 225–232. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2017.1164.29>
19. Siddiquee S., Shafawati S. N., Naher L. Effective composting of empty fruit bunches using potential *Trichoderma* strains. *Biotechnol Rep*. 2017. Vol. 13. P. 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2016.11.001>

Отримано 15.04.2021

## ACTIVITY OF ENZYMATIC CELLULOLYTIC COMPLEX AND ANTAGONISTIC PROPERTIES OF *TRICHODERMA HARZIANUM* 128

S. B. Dimova, S. M. Derkach, V. V. Volkohon

Institute of Agricultural Microbiology and Agroindustrial Manufacture, NAAS, Chernihiv  
e-mail: dimova13@ukr.net

**Objective.** To study the activity of enzymes of the cellulolytic complex of the association of micromycetes *Trichoderma harzianum* 128 and their antagonistic activity; to study the possibility of the influence of fungal introduction to the composted substrate on the composting rate and quality of composts. **Methods.** Microbiological (for growing micromycetes in digest media, accounting the number of *T. harzianum* 128 and determining the antagonistic activity of the association), agrochemical (to determine the characteristics of composting chicken manure-based substrates and content of carbon and nitrogen in these substrates), biochemical (study of activity of cellulolytic enzymes), production inspection (on the basis of Agrofirma KOLOS LLC, Region of Kyiv). **Results.** The association of *T. harzianum* 128 micromycetes is characterized by high activity of exoglucanase, endoglucanase and  $\beta$ -glucosidase, which contributes to reduction in the composting time of organic matter upon the introduction of fungi to the chicken manure-based substrate. *T. harzianum* 128 has pronounced antifungal properties against pathogens of certain diseases of crops (*Fusarium oxysporum*, *F. sulfurum*, *Nigrospora oryzae*). Enrichment of composted substrates with the studied micromycetes provides their active development (up to 8,150 thous CFU/g of dry compost), accumulation of carbon and nitrogen in compost, which improves the quality of the final product. **Conclusion.** The association of *T. harzianum* 128 micromycetes is characterized by high activity of enzymes of the cellulolytic complex, has a pronounced antagonistic activity against pathogens of certain diseases of crops. The introduction of *T. harzianum* 128 to composted chicken manure-based substrates reduces the composting time and improves the quality of the final product, which can increase the productivity of agrocenoses by including biofertilizers in crop fertilization systems.

Key words: *Trichoderma harzianum*, cellulolytic enzymes, antagonistic activity, poultry manure, composting, composts.

### REFERENCES

1. Borzova, N. V., Varbanets, L. D. (2009). Tseliulozodehraduiuchi systemy mikroorhanizmv: biosyntezy, vlastyivosti ta strukturno-funktsionalni osoblyvosti [Cellulose-degrading systems of microorganisms: biosynthesis, properties and structural-functional features]. *Biotekhnolohiia — Biotechnology*, 2(2), 23–41 [in Ukrainian].
2. Derkach, S. M., Miahka, M. V., Volkohon, V. V., Nakonechna, L. T., Dimova, S. B., Kravchenko, & N. O., Lutsenko, N. V. (2018). Morfoloho-kulturalni ta fiziolooho-biokhimichni osoblyvosti shtamiv mikromitsetiv, shcho vkhodiat do skladu asotsiatsii *Trichoderma harzianum* 128 [Morphological-cultural and physiological-biochemical features of micromycete strains that are part of the association *Trichoderma harzianum* 128]. *Silskohospodarska mikrobiolohiia — Agricultural microbiology*, 28, 17–26 [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.35868/1997-3004.28>
3. Volkohon, V. V. (Ed.). (2010). *Eksperymentalna gruntova mikrobiolohiia* [Experimental soil microbiology]. Kyiv: Ahrarna nauka [in Ukrainian].
4. Zhdanova, N. M., Olishevskaya, S. V., Vasylevska, A. I., Aizenberh, V. L., & Kurchenko, I. M. (2008). Skryyninh shtamiv mikromitsetiv, shcho zdatni rosty ta ruinovaty tseliulozovmisnyi substrat [Screening of micromycete strains capable of growing and destroying cellulose-containing substrate]. *Mikrobiolohiia i biotekhnolohiia — Microbiology and biotechnology*, 3, 58–64 [in Ukrainian].
5. Iovenko, A. S. (2016). Tseliulozolytychna aktyvnist hryba-antahonista *Chaetomium cochliodes*, bioahenta mikrobnoho preparatu khetomika. [Cellulolytic activity of the antagonist fungus *Chaetomium cochliodes*, a bioagent of the microbial preparation Hetomik.] *Silskohospodarska mikrobiolohiia — Agricultural microbiology*, 24, 18–23 [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.35868/1997-3004.24>
6. Bilay, V. I. (Ed.). (1982). *Metody eksperymental'noy mikologii. Spravochnik*. [Methods of ex-

perimental mycology. Directory]. Kiev: Naukova dumka [in Russian].

7. Patyka, V. P., Kopylov, Ye. P., & Skulovator, O. V. (2016). Tseliulozolitychna aktyvnist gruntovoho hryba *Shaetomium globosum*. *Visnyk Uman'skoho natsionalnoho instytutu sadivnytstva — Bulletin Uman National Institute of Horticulture*, 1, 28–30 [in Ukrainian].

8. Fomin, G. S., Fomin, A. G. (2001). *Pochva. Kontrol' kachestva i ekologicheskoy bezopasnosti po mezhdunarodnym standartam* [Soil. quality control and environmental safety in accordance with international standards]. Moskva: Protektor [in Russian].

9. Bernal-Vicente, A., Pascual, J. A., Tittarelli, F., Hernández, J. A., & Diaz-Vivancos, P. (2015). *Trichoderma harzianum* T-78 supplementation of compost stimulates the antioxidant defence system in melon plants. *J Sci Food Agric*, 95(11), 2208–2214. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6936>

10. Bernal-Vicente, A., Ros, M., & Pascual, J. A. (2012). Inoculation of *Trichoderma harzianum* during maturation of vineyard waste compost to control muskmelon *Fusarium* wilt. *BioResources*, 7(2), 1948–1960. <https://doi.org/10.15376/biores.7.2.1948-1960>

11. Blaya, J., López-Mondéjar, R., Lloret, E., Pascual, J. A., & Ros, M. (2013). Changes induced by *Trichoderma harzianum* in suppressive compost controlling *Fusarium* wilt. *Pestic Biochem Physiol.*, 107(1), 112–119. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2013.06.001>

12. Derkach, S. M., Volkohon, V. V., & Horban, V. P. (2019). Exogenous physiologically active substances of *Trichoderma harzianum* 128 and their synthesis while introduction of micromycetes into composted substrate. *Silskohospodarska mikrobiologiya — Agricultural microbiology*, 29, 37–45.

<https://doi.org/10.35868/1997-3004.29.37-45>

13. Gautam, S. P., Bundela, P. S., Pandey, A. K., Awasthi, M. K., & Sarsaiya, S. (2010). Composting of municipal solid waste of Jabalpur city. *Global J Environ Res.*, 4(1), 43–44.

14. Indriyati, L. T. (2014). Chicken manure composts as nitrogen sources and their effect on the growth and quality of komatsuna (*Brassica rapa* L.). *J. ISSAAS*, 20(1), 52–63.

15. Kobierski, M., Bartkowiak, A., Lemaniowicz, J., & Piekarczyk, M. (2017). Impact of poultry manure fertilization on chemical and biochemical properties of soils. *Plant Soil Environ.*, 63(12), 558–563. <https://doi.org/10.17221/668/2017-PSE>

16. Makhatov, Z., Kedelbayev, B., Lieberzeit, P., Dzhakashyeva, M., Elemanova, Z., Abildayeva, R., ... & Akhmedova, Z. (2019) Biosynthesis of cellulase with *Trichoderma viride* and *Aspergillus awamori* micromycetes in co-cultivation. *Eur Asian Journal of BioSciences*, 13(2). 1521–1526.

17. Moore, P. A., Daniel, T. C., Sharpley, A. N., & Wood, C. W. (1995). Poultry manure management: Environmentally sound options. *J Soil and Water Cons.*, 3, 321–327.

18. Pascual, J. A., Bernal-Vicente, A., Martínez-Medina, A., Ros, M., & Sánchez, C. (2017). Biostimulant and suppressive effect of *Trichoderma harzianum* enriched compost for melon cultivation from greenhouse nursery to field production. *Acta Horticulturae*, 1164, 225–232. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2017.1164.29>

19. Siddiquee, S., Shafawati, S. N., & Naher, L. (2017). Effective composting of empty fruit bunches using potential *Trichoderma* strains. *Biotechnol Rep.*, 13, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2016.11.001>

Received 15.04.2021