

## АНТАГОНІСТИЧНА АКТИВНІСТЬ ГРИБІВ *GLIOCLADIUM* SP. В УМОВАХ *IN VITRO*

Т. О. Рожкова, Л. О. Білявська

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України  
вул. Академіка Заболотного, 154; м. Київ, 03143, Україна; e-mail: rozhkova8@gmail.com

**Мета.** Виділити ефективні ізоляти *Gliocladium* sp. шляхом вивчення антагоністичної активності в умовах *in vitro* щодо фітопатогенних видів грибів, отриманих з різних субстратів. **Методи.** Вивчення ефективності *Gliocladium* sp. провели щодо *Botrytis cinerea*, *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *F. roae*, *Cladosporium* sp., *Alternaria tenuissima* та *A. arborescens*. Гриби визначали за морфологією анаморфи. Дуальну культуру вирощували на середовищі Чапека-Докса з глюкозою. Інкубацію проводили впродовж семи діб у термостаті за температури 22–25 °С. **Результати.** *Gliocladium* sp. виділено з коренів пшениці озимої сорту Богдана після пророщування насіння впродовж трьох діб у ґрунті. За цей період гриби колонізували корені, тоді як за аналізу насіння на картопляно-глюкозному агарі їх не було виявлено. Ізоляти досліджуваного роду мали значну швидкість росту. Вивчення антагоністичної активності *Gliocladium* sp. б щодо *B. cinerea* та *F. solani* 1 показало високу ефективність щодо першого та дуже низьку щодо другого. Пригнічення росту грибів мало різний характер. *B. cinerea* розвивався гірше за вирощування з *Gliocladium* sp., ніж за поодинокого культивування. За окремого вирощування *F. solani* 1 відзначили відставання його росту на перші дві доби обліків, як порівняти з дуальною культурою. Дослідження п'яти різних ізолятів показало їх різну дію на досліджувані гриби. Найвищу антагоністичну активність проявив ізолят № 4. **Висновки.** Мінімальний відсоток інгібування розвитку фітопатогенних грибів за використання ізолятів *Gliocladium* sp. склав 15,6 % для *F. solani* 1, максимальний — 81,3 % для *F. roae*. Найменші показники інгібування росту грибів мав ізолят № 2, але він єдиний ефективно стримував розвиток *F. oxysporum*. Ізолят № 6 пригнічував розвиток *B. cinerea* на 69,9 %. Вивчення ефективності ізолятів *Gliocladium* sp. щодо представників різних видів та родів продемонструвало їх кращу дію щодо меланізованих грибів. Найбільше обмеження росту спостерігали для альтернативних видів та грибів *Cladosporium* sp.

Ключові слова: антифунгальна дія, мікофільний гриб, *Gliocladium* sp., фітопатогени.

**Вступ.** У зв'язку з глобальною екологічною кризою, що загострилася на фоні кліматичних змін, необхідно переглянути наявну систему захисту рослин, у якій останніми роками переважає хімічний метод. Хоча фунгіциди, як порівняти з іншими пестицидами, не мають такої загрозливої дії для людини й природи, але деякі з них поступово забороняють для використання у зв'язку з відкриттям нових фактів їх негативного впливу на довкілля. Альтернативною заміною хімічних є біофунгіциди, які мають мен-

шу вартість. В Україні більшість мікробних препаратів розроблено на основі бактерій, грибів та актиноміцетів. Серед грибних найуживанішими є біопрепарати на основі *Trichoderma*. Розширення спектру родів та видів грибів як основи біопрепаратів покращить можливості біологічного захисту та зменшить накопичення одноманітних видів в агроценозах.

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** Гриби роду *Gliocladium* є відомими біоагентами, їх застосовують для захисту

рослин від хвороб за вирощування сільськогосподарських культур. Здебільшого у природі гриби з роду *Gliocladium* мешкають як сапрофіти на субстратах, багатих на целюлози та геміцелюлози [1]. Розкладаючи ці речовини, гриби синтезують вуглеводні. Виділено штами, які можна застосовувати для промислового виробництва біопалива [2].

Гриби роду *Gliocladium* мають протигрибну, антибактеріальну, протинематодну дію та негативно впливають на комах. Найбільш вивченою є ефективність пригнічення фітопатогенних грибів [3]. Доведено антагоністичну дію *Gliocladium* sp. щодо представників різних грибних родів: *Alternaria*, *Botrytis*, *Didymella*, *Fusarium*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia* та *Sclerotinia* [4]. Також вони здатні пригнічувати бактерії: грамозитивні (*Bacillus subtilis* та *Staphylococcus aureus*) і грамнегативні (*Erwinia carotovora* pv. *carotovora* — збудник м'якої гнилі бульб картоплі) [5]. Недавні дослідження продемонстрували перспективність застосування екстракту гриба *Gliocladium* sp. MR41 проти збудника туберкульозу [6]. *T. virens* (J. H. Mill. et al.) Arx (= *G. virens* J.H.Mill. et al.) є ефективним щодо контролю фітонематод (*Meloidogyne* sp.) та перспективним до обмеження інших гельмінтів (*Toxocara canis*) [7; 8].

Біоконтроль на основі *Gliocladium* sp. опосередковується мікопаразитизмом, продукуванням вторинних метаболітів і ферментів, конкуренцією за поживні речовини та окупацію ризосфери, індукцією захисту рослин, сприянням росту рослин та стійкістю до стресових станів [9; 10].

*Gliocladium* sp. продукують різноманітні вторинні метаболіти. Антибіотична дія цих грибів зумовлена гліотоксином — продуктом біосинтетичного кластера, який визначається геномом нерибосомальної пептидної синтази. Показано, що мікопаразитизм *T. virens* визначається здебільшого продукуванням гліотоксину, тоді як *T. atroviride* більшою мірою продукує ферменти, які руйнують клітинну стінку. Але відкриття гліотоксину як продуцента умовно-патогенних для людини грибів призвело до зарахування його до мікотоксинів [11; 12]. Терпеноїди є найпоширенішими вторинними метаболітами *Gliocladium* sp. Наприклад, у *T. virens* знайдено та ідентифіковано сесквітерпени циклонеранового типу (циклонеротріол), кадинанового

типу (трихокадиніни), каротанового типу (трихокаротини та ін.) та інші (14-ацетилгліокладова кислота, діацетилгліокладова кислота, риномілізин В, ксиларинова кислота В, гідрогептелідинова кислота, хлоргептели, дивіренсоли та тривіренсоли) [13].

Ендоефітний гриб *Gliocladium cibotii* з *Verbena officinalis* L. показав пом'якшення теплового стресу за вирощування різних сільськогосподарських культур [14]. Доведено, що за умов взаємодії з корінням рослин кукурудзи *T. virens* здатний викликати системну стійкість (ISR), яка зменшує ураженість надземної частини рослин [15]. Доведено, що *T. virens*, продукуючи індольні сполуки, може збільшувати біомасу та стимулювати розвиток бокових коренів [16].

Гриби мають більшу здатність до поглинання важких металів, ніж дріжджі, водорості та бактерії. Гриби з роду *Gliocladium* найкраще адсорбують мідь компонентами клітинної стінки [17].

**Мета досліджень.** Визначити антагоністичну активність *Gliocladium* sp. в умовах *in vitro* щодо фітопатогенних видів з різних субстратів для виділення найбільш ефективних ізолятів.

**Матеріали і методи.** *Gliocladium* sp. виділено з коренів пшениці озимої сорту Богдана після трьох діб пророщування насіння у ґрунті з поля, де у 2021–2022 рр. відбулася вегетація цієї культури. Проростки разом з корінцями вкоротили до довжини 5 мм, простерилізували у 96 %-му етиловому спирті, промили у дистильованій воді та розклали на картопляно-глюкозний агар. На коренях не спостерігали утворення будь-яких симптомів, окрім розростання нальоту гриба. Гриби, проти яких вивчали антагоністичну активність *Gliocladium* sp., виділили з різних субстратів (табл. 1) та визначили за будовою анаморфи. Для дослідження використали семиденну культуру грибів.

Перевіряли антагоністичну здатність п'яти ізолятів *Gliocladium* sp. Ізоляти № 4, № 5 (мали менш інтенсивне спороношення) та № 6 виділено з коренів пшениці, а № 2 та № 7 — після сумісного вирощування з *F. solani* 1 та *B. cinerea*, відповідно.

Антагоністичну активність визначали шляхом дуальної культури на середовищі Чапека-Докса з глюкозою. Семиденні культури грибів висіяли на відстані 30 мм від

Таблиця 1. Походження видів/роду досліджуваних грибів

Вид/рід	Місце походження зразка	Субстрати	Культури	Органи
<i>Botrytis cinerea</i> Pers. ex Fr.	Київ (ІМБ)	рослина	Баклажан	листя
<i>Fusarium solani</i> 1 (Mart.) Sacc.	Суми (СНАУ)	грунт, рослина	Пшениця	коріння
<i>F. solani</i> 2	Сумська обл.	грунт, рослина	Редиска	насіння
<i>F. oxysporum</i> Schlecht.	Хмельницька обл.	рослина	Пшениця	насіння
<i>F. poae</i> (Peck) Wollenw.	Суми (СНАУ)	рослина	Пшениця	насіння
<i>Cladosporium</i> sp.	Шостка	рослина	Соняшник	насіння
<i>Alternaria tenuissima</i> Samuel Paul Wiltshire	Київ	рослина	Осот рожевий	листя
<i>A. arborescens</i> E. G. Simmons	Київська обл.	рослина	Картопля	бульби

країв чашок Петрі діаметром 90 мм. За поодиноким вирощування гриби висівали в середину чашки. Інкубацію проводили впродовж семи діб у термостаті за температури 22–25 °С. Відсоток інгібування визначали за формулою:

$$I (\%) = R_1 - R_2 / R_1 \times 100 \% \quad [18].$$

Повторення у першому досліді — п'ятикратне, у другому — трикратне.

Статистичну обробку отриманих результатів провели за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA) у програмі Statistica 6 з наступним розрахунком НР<sub>05</sub>.

**Результати та їх обговорення.** Рід грибів діагностовано за морфологією анаморфи. Спостерігали утворення характерних для грибів роду *Gliocladium* конідієносців з фіалідами, на яких у вигляді щільних кульок було зібрано округлі одноклітинні конідії [4]. Скупчення спор було різним за розміром (рис. 1).



Рис. 1. Морфологія конідіального спорношення *Gliocladium* sp. (ізолят № 2).

*Gliocladium* sp. потрапили до коренів пшениці після її пророщування у ґрунті, оскільки попередньо нами було проведено вивчення мікобіоти насіння цього зразка і не виявлено представників цього роду усередині насіння. *F. solani* 1 було виділено таким самим способом з різних частин рослин пшениці після пророщування насіння в ґрунті. Мікроміцети зазначеного виду як колонізували корені, так і потрапляли до проростків пшениці.

Ізоляти *Gliocladium* sp. характеризувалися швидким ростом. Більшість із них займала всю поверхню чашки Петрі діаметром 90 мм на 4–5-ту добу культивування.

Спочатку провели вивчення антагоністичної активності *Gliocladium* sp. щодо видів *B. cinerea* та ізоляту *F. solani* 1. Спостерігали за окремим ростом грибів та їхньою дуальною культурою впродовж декількох днів (рис. 2).

Відзначено різний характер розвитку видів за їх сумісного вирощування. *Gliocladium* sp. поступово пригнічував розвиток *B. cinerea*. Відсоток інгібування цього виду на 7-му добу склав 69,9 % (рис. 3). За вирощування одного виду *F. solani* 1 спостерігали відставання його росту на перші дві доби обліків, як порівняти з дуальною культурою. *Gliocladium* sp. почав пригнічувати розвиток фузарієвого гриба з 6-ї доби культивування. Відсоток інгібування склав лише 15,6 %. На нашу думку, це пов'язано з подібністю походження видів, тобто схожими умовами існування у природі. Вивчення антагоністичної активності грибів роду *Trichoderma* до *F. oxysporum* показало доволі низький відсоток інгібування — 16,67–47,91 % за рахунок їх

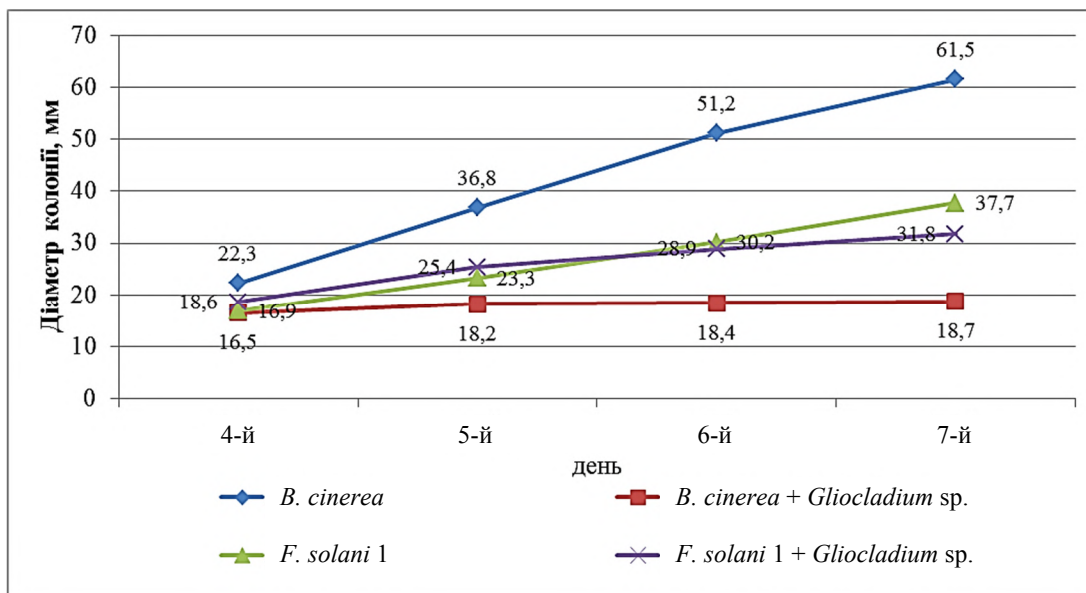


Рис. 2. Антагоністична активність *Gliocladium* sp. 6 щодо *B. cinerea* та *F. solani* 1 ( $HIP_{057Bc} = 5,1$ ;  $HIP_{057Fs1} = 4,5$ ).

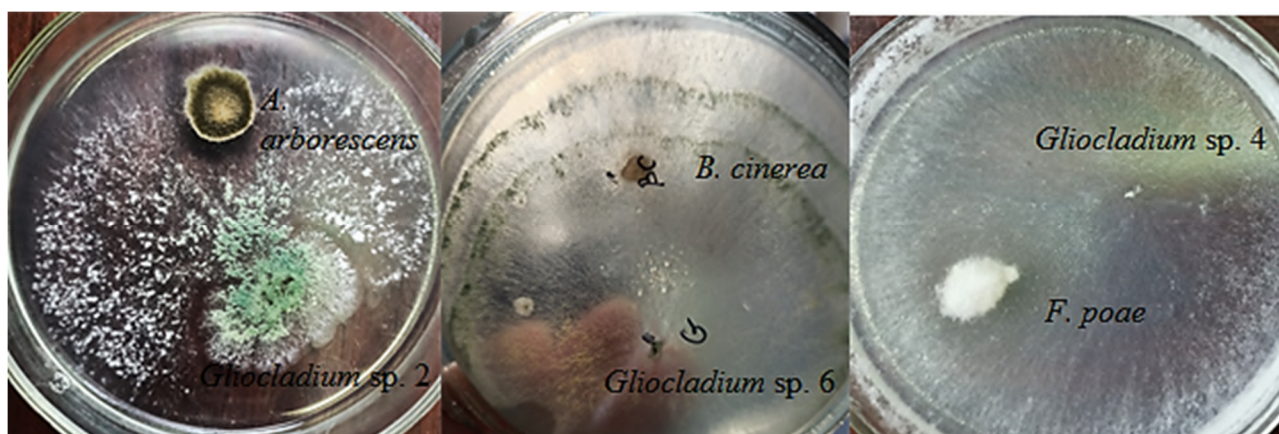


Рис. 3. Дуальні культури ізолятів *Gliocladium* sp. 2, *Gliocladium* sp. 6 та *Gliocladium* sp. 4 з *A. arborescens*, *B. cinerea* та *F. poae* (7-ма доба).

співіснування у ризосфері *Radix pseudostellariae* Rupr. & Maxim. Причому монокультура призвела до збільшення чисельності фітопатогену та зниження кількості мікопаразитів [19].

За сумісного вирощування *Gliocladium* sp. та *F. solani* 1 виділили новий штам, який відрізнявся забарвленням та активним спороношенням, як порівняти з ізолятом № 6. Ізолят № 7 виділено за дуальної культури з *B. cinerea*, хоча за морфологією він нагадував первинний ізолят № 6. Наші дії пояснювалися тим, що сьогодні активно проводять пошук нових вторинних метаболітів, які утворюються за сумісного культивування мікроорганізмів [20]. У такий спосіб розширили спектр ізолятів *Gliocladium* sp.

Після цього провели визначення пригні-

чення п'ятьма ізолятами розвитку різних видів/роду грибів (табл. 2).

Відзначили різну дію ізолятів *Gliocladium* sp. на досліджувані гриби. Найгірше стримував розвиток ізолят № 2 у *F. solani* 2. Найвищий відсоток інгібування відзначили в ізоляту № 4 щодо іншого фузарієвого гриба — *F. poae* (рис. 3).

Біологічно активними можна вважати ізоляти, які мають відсоток інгібування, вищий за 60 % [21]. Тому найвищу антагоністичну активність проявив ізолят № 4. 5-й ізолят дещо поступався, маючи незначний показник щодо стримування росту *F. solani* 2. Вивчення ефективності 23 ізолятів *T. virens* продемонструвало їхню різну ефективність щодо ґрунтових фітопатогенів *F. oxysporum*, *R. solani* та *S. rolfsii*. Серед досліджених ізо-

Таблиця 2. Антагоністична активність ізолятів *Gliocladium* sp. щодо представників роду/видів різного походження

Рід/види	Інгібування росту грибів різними ізолятами, %				
	№ 2	№ 4	№ 5	№ 6	№ 7
<i>Cladosporium</i> sp.	57,7	<b>75,4</b>	<b>78,9</b>	<b>65,7</b>	44,5
<i>F. oxysporum</i>	<b>62,2</b>	59,2	59,4	54,0	40,8
<i>F. poae</i>	37,4	<b>81,3</b>	<b>77,2</b>	52,8	57,8
<i>F. solani</i> 2	33,9	<b>61,3</b>	45,2	43,3	46,8
<i>A. tenuissima</i>	49,3	<b>74,0</b>	<b>74,0</b>	<b>70,9</b>	<b>74,0</b>
<i>A. arborescens</i>	<b>67,3</b>	<b>79,5</b>	<b>79,3</b>	54,5	60,0

Примітка: жирним шрифтом позначено показники відсотка інгібування різних ізолятів, які перевищують 60 %.

лятів було виділено лише три, які мали високий відсоток інгібування досліджуваних грибів. V-8 пригнітив розвиток *F. oxysporum* на 82,31 %, V-21 стримав ріст колонії *R. solani* на 81,76 %, а V-8 інгібував *S. rolfisii* на 87,39 % [22].

Гриби з різних субстратів мали деякі особливості пригнічення. Найменші показники відсотка інгібування росту відзначили у *F. solani* 2, який виділили за пророщування насіння редису з ґрунту. Лише ізолят № 4 активно стримав його розвиток. Отже, як і за вивчення сумісного культивування з *F. solani* 1, *Gliocladium* sp. гірше регулював ріст колонії ґрунтового ізоляту. Курченко зі співавт. [21], вивчаючи дуальну культуру *F. solani* та *Trichoderma* sp., отримали дані щодо протистояння фітопатогена антагоністичному впливу біоагента. Зі 100 досліджених штамів 26 інгібували ріст *F. solani* на 60 % та вище, а шість — більше за 70 %. Автори пояснили цей факт швидким ростом гриба фітопатогенного виду та його здатністю до синтезу трихотеценів.

*Cladosporium* sp., який домінував у мікобіоті насіння соняшнику, активно пригнічувався трьома ізолятами досліджуваного біоагента. Фузарієві гриби з насіння пшениці відрізнялися за їх інгібуванням: *F. oxysporum* активно пригнічував лише ізолят № 2, натомість розвиток *F. poae* ефективно обмежували 4-й та 5-й ізоляти.

*Gliocladium* sp. найкраще стримав розвиток альтернарієвих грибів, ізольованих з різних органів рослин, особливо *A. tenuissima* з листя осоту рожевого. *T. virens* IMI-392430 за дуальної культури з *A. alternata* (збудника

опіку листя *Withania somnifera* (L.) Dunal) показав доволі низький рівень антагоністичної активності — 43,62 % [23]. Ґрунтові ізоляти *T. virens* виявились ефективними проти *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl. — збудника стеблової гнилі касави у Таїланді [24]. *A. arborescens*, виділений із бульб картоплі з ознаками ураження, ефективно контролювався 2-м, 4-м та 5-м ізолятами.

**Висновки.** Виділено гриби з роду *Gliocladium*, які є ендofітами коренів пшениці. Ці мікроміцети мають значну швидкість росту на середовищі Чапека-Докса з глюкозою. Антифунгальна дія *Gliocladium* sp. залежала від властивостей ізолятів досліджуваного гриба та їхнього походження. Мінімальний відсоток інгібування склав 15,6 % для *F. solani* 1, максимальний — 81,3 % для *F. poae*. Найефективнішим з п'яти досліджуваних ізолятів виявився *Gliocladium* sp. 4. Найнижчі показники інгібування росту грибів мав ізолят № 2, проте він єдиний ефективно стримував розвиток *F. oxysporum*. Ізолят № 6 пригнічував розвиток *B. cinerea* на 69,9 %. Вивчення антагоністичної дії ізолятів *Gliocladium* sp. на фітопатогенні гриби різних видів продемонструвало їхню високу ефективність щодо обмеження розвитку пігментованих грибів. Найбільш істотно обмежувався ріст альтернарієвих видів та грибів роду *Cladosporium* sp. Фузарієві гриби, особливо *F. solani* 2, слабше реагували на *Cladosporium* sp., що можна пояснити співіснуванням представників обох родів в одній екологічній ніші.

1. Enzymes, biological control and commercial applications. Vol. 2 Trichoderma and Gliocladium / G. E. Harman, C. P. Kubicek (Eds.). Boca Raton: CRC Press, 1998. 393 p.
2. Ahamed A., Ahring B. K. Production of hydrocarbon compounds by endophytic fungi Gliocladium species grown on cellulose. *Bioresource technology*. 2011. Vol. 102(20). P. 9718–9722 <https://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2011.07.073>
3. Castillo H., Rojas R., Villalta M. Gliocladium sp., agente biocontrolador con aplicaciones prometedoras. *Revista Tecnología en Marcha*. 2016. Vol. 29. P. 65–73. <https://dx.doi.org/10.18845/tm.v29i7.2707>
4. Helyer N., Cattlin N. D., Brown K. C. Biological control in plant protection: a colour handbook. London: CRC Press, 2014. 276 p. <https://doi.org/10.1201/b16042>
5. Saputra H., Puspota F., Tjandrawati T. Production of an antibacterial compound against the plant pathogen *Erwinia carotovora* subs. *carotovora* by the biocontrol strain *Gliocladium* sp. T.N.C73. *Journal of Agricultural Technology*. 2013. Vol. 9(5). P. 1157–1165.
6. Uc-Cachón A. H., Gamboa-Angulo M., Borges-Argáez R., Reyes-Estebanez M., Said-Fernández S., Molina-Salinas G. M. Antitubercular activity of the fungus *Gliocladium* sp. MR41 strain. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2019. Vol. 18(2). P. 860–866. <https://dx.doi.org/10.22037/ijpr.2019.1100667>
7. Amin N. The use of fungal endophytes *Gliocladium* spp. in different concentration to control of root-knot nematode *Meloidogyne* spp. *Academic Research International*. 2014. Vol. 5(2). P. 91–95.
8. Filhoa F., Fonseca A., Persicia B., Silveira J., Bragaa C., Pötterb L. ... Pereira D. *Trichoderma virens* as a biocontrol of *Toxocara canis*: in vivo evaluation. *Revista iberoamericana de Micología*. 2017. Vol. 34. № 1. P. 32–35. <https://dx.doi.org/10.1016/j.riam.2016.06.004>
9. Sun Z., Li S., Ren Q., Xu J., Lu X., Sun M. Biology and applications of *Clonostachys rosea*. *Journal of Applied Microbiology*. 2020. Vol. 129. P. 486–495. <https://doi.org/10.1111/jam.14625>
10. Gan L., Yin Y., Niu Q., Yan X., Yin S. New insights into the mechanism of *Trichoderma virens* induced developmental effects on *Agrostis stolonifera* disease resistance against dollar spot infection. *Journal of Fungi*. 2022. Vol. 8. P. 1186. <https://doi.org/10.3390/jof8111186>
11. Knowles S. L., Mead M. E., Silva L. P., Raja H. A., Steenwyk J. L., Goldman G. H. ... Rokas A. Gliotoxin, a known virulence factor in the major human pathogen *Aspergillus fumigatus*, is also biosynthesized by its nonpathogenic relative *Aspergillus fischeri*. *mBio*. 2020. Vol. 11. e03361-19. <https://doi.org/10.1128/mBio.03361-19>
12. Zaid R., Koren R., Kligun E., Gupta R., Leibman-Markus M., Mukherjee P. K. ... Horwitz B. A. Gliotoxin, an immunosuppressive fungal metabolite, primes plant immunity: evidence from *Trichoderma virens*-tomato interaction. *ASM-Journals. mBio*. 2022. Vol. 13 (4). <https://doi.org/10.1128/mbio.00389-22>
13. Bai B., Liu C., Zhang C., He X., Wang H., Peng W., Zheng C. *Trichoderma* species from plant and soil: an excellent resource for biosynthesis of terpenoids with versatile bioactivities. *Journal of Advanced Research*. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2022.09.010>
14. Ismail I., Hamayun M., Hussain A., Iqbal A., Khan S. A., Khan M. A., Lee I. An endophytic fungus *Gliocladium cibotii* regulates metabolic and antioxidant system of *Glycine max* and *Helianthus annuus* under heat stress. *Polish Journal of Environmental Studies*. 2021. Vol. 30 (2). P. 1631–1640. <https://doi.org/10.15244/pjoes/125770>
15. Lamdan N.-L., Shalaby S., Ziv T., Kenerley C. M., Horwitz B. A. Secretome of *Trichoderma* interacting with maize roots: role in induced systemic resistance. *Molecular and Cellular Proteomics*. 2015. Vol. 14 (4). P. 1054–1063. <https://doi.org/10.1074/mcp.M114.046607>
16. Contreras-Cornejo H. A., Macías-Rodríguez L., Cortés-Penagos C., López-Bucio J. *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in *Arabidopsis*. *Plant physiology*. 2009. Vol. 149(3). P. 1579–1592. <https://doi.org/10.1104/pp.108.130369>
17. Tahir A. Resistant fungal biodiversity of electroplating effluent and their metal tolerance index. *Electroplating*. 2012. P. 137–144. <http://dx.doi.org/10.5772/34624>
18. Fokkema N. J., Meuleun F. Antagonism of yeast like phyllosphere fungi against wheat leaves. *Netherlands Journal of Plant Pathology*. 1976. Vol. 82. P. 13–16.
19. Chen J., Zhou L., Din I. U., Arafat Y., Li Q., Wang J. ... Lin W. Antagonistic activity of *Trichoderma* spp. against *Fusarium oxysporum* in rhizosphere of *Radix pseudostellariae* triggers the expression of host defense genes and improves its growth under long-term monoculture system. *Frontiers in Microbiology*. 2021. Vol. 12. 579920. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.579920>
20. Zhang Z. X., Yang X. Q., Zhou Q. Y., Wang B. Y., Hu M., Yang Y. B. ... Ding Z. T. New azaphilones from *Nigrospora oryzae* co-cultured with *Beauveria bassiana*. *Molecules*. 2018. Vol. 23(7). 1816. <https://doi.org/10.3390/molecules23071816>
21. Методи визначення антагоністичної активності мікроміцетів роду *Trichoderma* проти фітопатогенних грибів і бактерій: науково-мето-

дичні рекомендації / І. М. Курченко, Я. І. Савчук, О. М. Юр'єва, Л. Т. Наконечна, С. О. Сирчін, А. К. Павличенко ... К. С. Циганенко. Київ : ФООП Ямчинський О. В., 2021. 43 с.

22. Srinivasa N., Devi T. P., Sudhirkumar S., Kamil D., Borah J. L., Prabhakaran N. Bioefficacy of *Trichoderma* isolates against soil-borne pathogens. *African Journal of Microbiology Research*. 2014. Vol. 8. P. 2710–2723. <https://doi.org/10.5897/AJMR2013.6588>

23. Rahman M. A., Rahman M. A., Moni Z. R.,

Rahman M. A. Evaluation of bio-control efficacy of *Trichoderma* strains against *Alternaria alternata* causing leaf blight of ashwagandha (*Withania somnifera* (L.) Dunal). *Journal of Forest and Environmental Science*. 2020. Vol. 36(3). P. 207–218. <https://doi.org/10.7747/JFES.2020.36.3.207>

24. Buensanteai N., Athinuwat D. The antagonistic activity of *Trichoderma virens* strain TvSUT10 against cassava stem rot in Thailand. *African Journal of Biotechnology*. 2012. Vol. 11 (84). P. 14996–15001. <https://doi.org/10.5897/AJB12.2385>

Отримано 18.08.2022

<https://doi.org/10.35868/1997-3004.36.55-63>

UDC 579.264:582.282

## IN VITRO ANTAGONISTIC ACTIVITY OF *GLIOCLADIUM* SP.

T. O. Rozhkova, L. O. Biliavska

D. K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, NAS of Ukraine, Kyiv  
e-mail: rozhkova8@gmail.com

**Objective.** Get effective isolates of *Gliocladium* sp. by in vitro evaluation of the antagonistic activity against phytopathogenic species of fungi obtained from different substrates. **Methods.** Study of the efficiency of *Gliocladium* sp. Was conducted against *Botrytis cinerea*, *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *F. poae*, *Cladosporium* sp., *Alternaria tenuissima* and *A. arborescens*. Fungi were identified by anamorph morphology. The dual culture was grown on Czapek-Dox medium with glucose. Incubation was carried out for seven days in a thermostat at 22–25 °C. **Results.** *Gliocladium* sp. was isolated from the roots of winter wheat of Bohdana variety after seed sprouting in the soil for three days. During this period, the fungi colonized the roots, while the analysis of the seeds on potato-glucose agar did not detect them. Isolates of the studied genus had a significant growth rate. Study of the antagonistic activity of *Gliocladium* sp. against *B. cinerea* and *F. solani* 1 showed high efficiency against the former and very low against the latter. Inhibition of fungal growth was different. *B. cinerea* developed worse when grown with *Gliocladium* sp. than when grown alone. During separate cultivation of *F. solani* 1, its growth lag was registered for the first two days of recording, compared to dual culture. The study of five different isolates showed their different effects on the studied fungi. Isolate No. 4 showed the highest antagonistic activity. **Conclusion.** The minimum percentage of inhibition of the development of phytopathogenic fungi using isolates of *Gliocladium* sp. was 15.6 % for *F. solani* 1, the maximum was 81.3 % for *F. poae*. Isolate No. 2 had the lowest parameters of fungal growth inhibition, but it was the only one that effectively restrained the development of *F. oxysporum*. Isolate No. 6 inhibited the development of *B. cinerea* by 69.9 %. Study of the efficiency *Gliocladium* sp. isolates against the representatives of various species and genera demonstrated their better effect on melanized fungi. The greatest growth inhibition was reported for *Alternarium* species and *Cladosporium* sp.

Key words: antifungal action, mycophilous fungus, *Gliocladium* sp., phytopathogens.

### REFERENCES

1. Harman, G E., Kubicek, C. P. (Eds.). (1998). *Trichoderma And Gliocladium. Enzymes, biological control and commercial applications*. Boca Raton: CRC Press.

2. Ahamed, A., Ahring, B. K. (2011). Production of hydrocarbon compounds by endophytic fungi *Gliocladium* species grown on cellulose. *Bioresource technology*, 102(20), 9718–9722. <https://dx.doi.org/10.18845/tm.v29i7.2707>

3. Castillo, H., Rojas, R., & Villalta, M. (2016). *Gliocladium* sp., agente biocontrolador con aplicaciones prometedoras. *Revista Tecnología en Marcha*, 29, 65–73. <https://dx.doi.org/10.18845/tm.v29i7.2707>
4. Helyer, N., Cattlin, N. D., & Brown, K. C. (2014). *Biological control in plant protection: a colour handbook*. London: CRC Press. <https://doi.org/10.1201/b16042>
5. Saputra, H., Puspota, F., & Tjandrawati, T. (2013). Production of an antibacterial compound against the plant pathogen *Erwinia carotovora* subs. *carotovora* by the biocontrol strain *Gliocladium* sp. T.N.C73. *Journal of Agricultural Technology*, 9(5), 1157–1165.
6. Uc-Cachón, A. H., Gamboa-Angulo, M., Borges-Argáez, R., Reyes-Estebanez, M., Said-Fernández, S., & Molina-Salinas, G. M. (2019). Antitubercular activity of the fungus *Gliocladium* sp. MR41 strain. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 18(2), 860–866. <https://dx.doi.org/10.22037/ijpr.2019.1100667>
7. Amin, N. (2014). The use of fungal endophytes *Gliocladium* spp. in different concentration to control of root-knot nematode *Meloidogyne* spp. *Academic Research International*, 5(2), 91–95.
8. Filhoa, F., Fonseca, A., Persicia, B., Silveira, J., Bragaa, C., Pötterb, L. ... Pereira, D. (2017). *Trichoderma virens* as a biocontrol of *Toxocara canis*: in vivo evaluation. *Revista iberoamericana de Micología*, 34(1), 32–35. <https://dx.doi.org/10.1016/j.riam.2016.06.004>
9. Sun, Z., Li, S., Ren, Q., Xu, J., Lu, X., & Sun, M. (2020). Biology and applications of *Clonostachys rosea*. *Journal of Applied Microbiology*, 129, 486–495. <https://doi.org/10.1111/jam.14625>
10. Gan, L., Yin, Y., Niu, Q., Yan, X., & Yin, S. (2022). New Insights into the mechanism of *Trichoderma virens* induced developmental effects on *Agrostis stolonifera* disease resistance against dollar spot infection. *Journal of Fungi*, 8, 1186. <https://doi.org/10.3390/jof8111186>
11. Knowles, S. L., Mead, M. E., Silva, L. P., Raja, H. A., Steenwyk, J. L., Goldman, G. H. ... Rokas, A. (2020). Gliotoxin, a known virulence factor in the major human pathogen *Aspergillus fumigatus*, is also biosynthesized by its nonpathogenic relative *Aspergillus fischeri*. *mBio*, 11:e03361-19. <https://doi.org/10.1128/mBio.03361-19>
12. Zaid, R., Koren, R., Kligun, E., Gupta, R., Leibman-Markus, M., Mukherjee, P. K. ... Horwitz, B. A. (2022). Gliotoxin, an immunosuppressive fungal metabolite, primes plant immunity: evidence from *Trichoderma virens*-tomato interaction. *ASM-Journals. mBio*, 13(4). <https://doi.org/10.1128/mbio.00389-22>
13. Bai, B., Liu, C., Zhang, C., He, X., Wang, H., Peng, W., & Zheng, C. (2022). *Trichoderma* species from plant and soil: an excellent resource for biosynthesis of terpenoids with versatile bioactivities. *Journal of Advanced Research*. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2022.09.010>
14. Ismail, I., Hamayun, M., Hussain, A., Iqbal, A., Khan, S. A., Khan, M. A., & Lee, I. (2021). An endophytic fungus *Gliocladium cibotii* regulates metabolic and antioxidant system of *Glycine max* and *Helianthus annuus* under heat stress. *Polish Journal of Environmental Studies*, 30(2), 1631–1640. <https://doi.org/10.15244/pjoes/125770>
15. Lamdan, N.-L., Shalaby, S., Ziv, T., Kenerley, C. M., & Horwitz, B. A. (2015). Secretome of *Trichoderma* interacting with maize roots: role in induced systemic resistance. *Molecular and Cellular Proteomics*, 14(4), 1054–1063. <https://doi.org/10.1074/mcp.M114.046607>
16. Contreras-Cornejo, H. A., Macías-Rodríguez, L., Cortés-Penagos, C., & López-Bucio, J. (2009). *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in *Arabidopsis*. *Plant physiology*, 149(3), 1579–1592. <https://doi.org/10.1104/pp.108.130369>
17. Tahir, A. (2012). Resistant fungal biodiversity of electroplating effluent and their metal tolerance index. *Electroplating*, 137–144. <http://dx.doi.org/10.5772/34624>
18. Fokkema, N. J., Meuleun, F. (1976). Antagonism of yeast like phyllosphere fungi against wheat leaves. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 82, 13–16.
19. Chen, J., Zhou, L., Din, I. U., Arafat, Y., Li, Q., Wang, J. ... Lin, W. (2021). Antagonistic activity of *Trichoderma* spp. against *Fusarium oxysporum* in rhizosphere of *Radix pseudostellariae* triggers the expression of host defense genes and improves its growth under long-term monoculture system. *Frontiers in Microbiology*, 12, 579920. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.579920>
20. Zhang, Z. X., Yang, X. Q., Zhou, Q. Y., Wang, B. Y., Hu, M., Yang, Y. B. ... Ding, Z. T. (2018). New azaphilones from *Nigrospora oryzae* co-cultured with *Beauveria bassiana*. *Molecules*, 23(7), 1816. <https://doi.org/10.3390/molecules23071816>
21. Kurchenko, I. M., Savchuk, Ja. I., Jur'jeva, O. M., Nakonechna, L. T., Syrchin, S. O., Pavlychenko, A. K. ... Cyganenko, K. S. (2021). *Metody vyznachennia antahonistychnoi aktyvnosti mikro-mitsetiv rodu Trichoderma proty fitopatohennykh hrybiv i bakterii: naukovo-metodychni rekomendatsii* [Methods for determining the antagonistic activity of micromycetes of the genus *Trichoderma* against phytopathogenic fungi and bacteria: scientific and methodological recommendations]. Kyiv: FOP Jamchyns'kyj O. V. [in Ukrainian].
22. Srinivasa, N., Devi, T. P., Sudhirkumar, S., Kamil, D., Borah, J. L., & Prabhakaran, N. (2014).

Bioefficacy of *Trichoderma* isolates against soil-borne pathogens. *African Journal of Microbiology Research*, 8, 2710–2723. <https://doi.org/10.5897/AJMR2013.6588>

23. Rahman, M. A., Rahman, M. A., Moni, Z. R., & Rahman, M. A. (2020). Evaluation of bio-control efficacy of *Trichoderma* strains against *Alternaria alternata* causing leaf blight of ashwagandha (*Withania somnifera* (L.) Dunal).

*Journal of Forest and Environmental Science*, 36(3), 207–218. <https://doi.org/10.7747/JFES.2020.36.3.207>

24. Buensanteai, N., Athinuwat, D. (2012). The antagonistic activity of *Trichoderma virens* strain TvSUT10 against cassava stem rot in Thailand. *African Journal of Biotechnology*, 11(84), 14996–15001. <https://doi.org/10.5897/AJB12.2385>

Received 18.08.2022